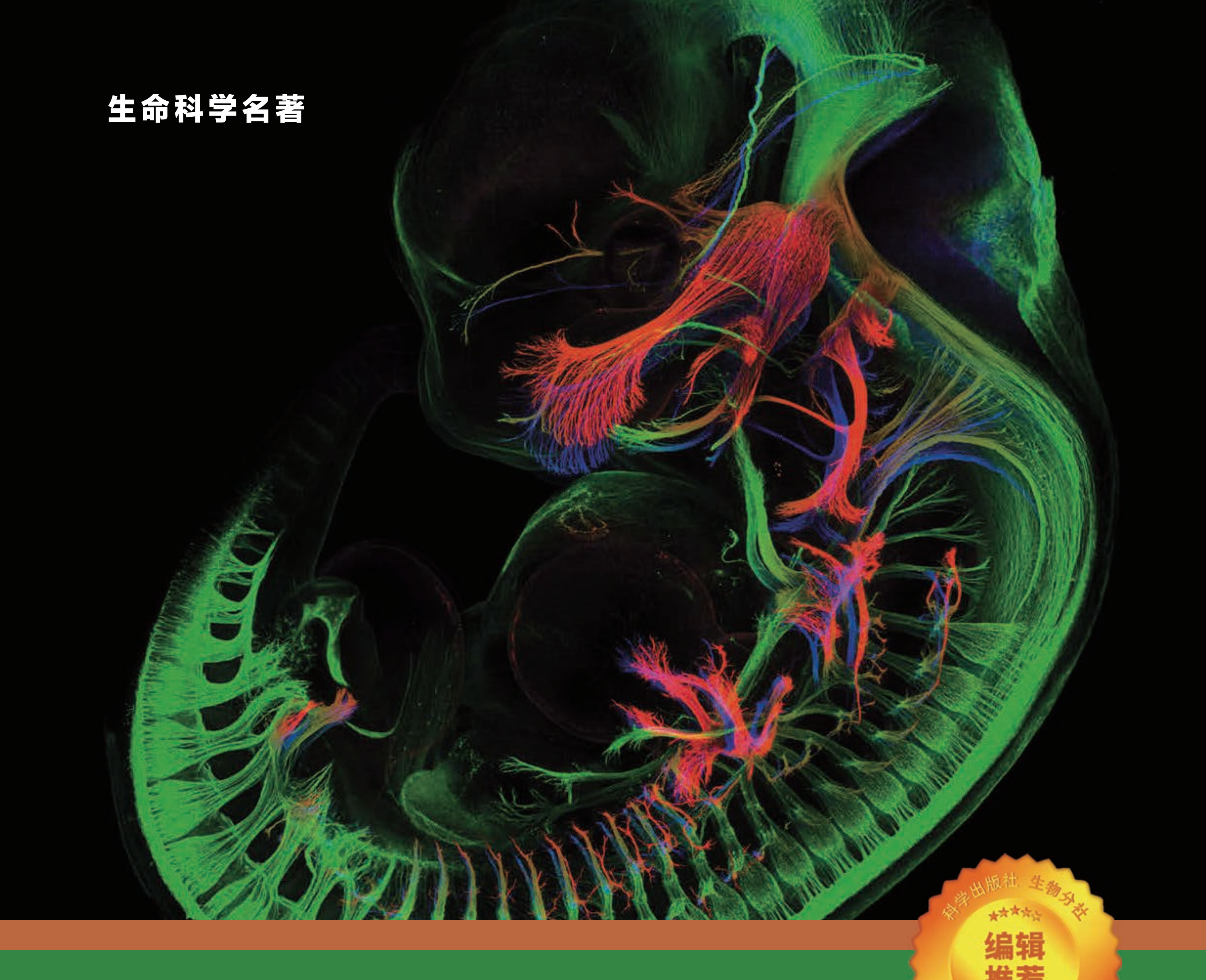
生命科学名著



科学出版社 生物分社
编辑推荐
Editor's Choice

发育生物学（原书第11版）

Developmental Biology (Eleventh Edition)

〔芬〕S. F. 吉尔伯特　〔美〕M. J. F. 巴雷西　编著
石德利 等　译

科学出版社

Developmental Biology

生命科学名著

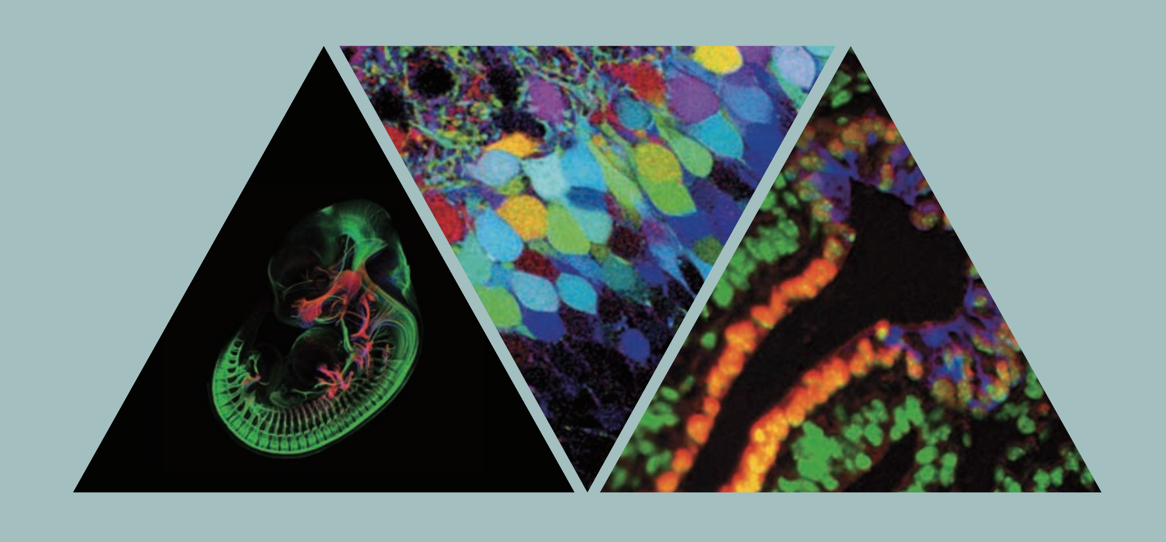
发育生物学

原书第11版

Developmental Biology（**Eleventh Edition**）

〔芬〕S. F. 吉尔伯特　〔美〕M. J. F. 巴雷西 ◎ 编著

石德利　等◎译



科 学 出 版 社

北 京

图字：01-2019-8080 号

内 容 简 介

本书是Scott F. Gilbert 和Michael J. F. Barresi合著的*Developmental Biology*第11版的中译本。本书对实验胚胎学的发展史和现代发育生物学做出了全面的介绍和深入的讨论，涉及无脊椎动物及脊椎动物的早期发育（细胞特化和分化、胚胎诱导、体轴形成、细胞运动）、器官发生、胚胎和成体干细胞、变态、再生，以及各种形式的发育共生、发育过程的生物体与环境的互作、进化变异的机制、人类生殖健康等问题。本书不仅以通俗易懂及生动的语言形象和系统地描述了发育生物学领域的开拓性探索及前沿性进展，也对未来的研究方向提出了进一步的思考。不仅突出了发育生物学研究的技术手段，也在很多重要发育生物学问题上与相关领域的科学家进行了互动。此外，针对每一章的简要概述和要点总结使得读者很容易理解和掌握重要发育过程的调控机制，以及每一章中穿插的一些拓展性问题更能使读者洞悉发育生物学研究的新方法及新思路。

本书能为从事发育生物学研究及教学的科研人员和教师、步入发育生物学领域的研究生，以及关注环境对生物体的影响、人类遗传疾病及健康发育等问题的读者提供极好的参考和借鉴。

图书在版编目（CIP）数据

发育生物学：原书第11版 /（芬）S. F. 吉尔伯特（Gilbert），（美）M. J. F. 巴雷西（Barresi）编著；石德利等译. —北京：科学出版社，2020.4

（生命科学名著）

书名原文：Developmental Biology

ISBN 978-7-03-064496-1

Ⅰ. ①发… Ⅱ. ①S… ②M… ③石… Ⅲ. ①发育生物学 Ⅳ. ①Q132

中国版本图书馆CIP数据核字（2020）第032505号

责任编辑：罗 静 岳漫宇 刘 晶 / 责任校对：郑金红

责任印制：吴兆东 / 封面设计：刘新新

科 学 出 版 社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码：100717

http: //www.sciencep.com

北京虎彩文化传播有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2020年4月第 一 版 开本：889×1194 1/16

2020年4月第一次印刷 印张：50 1/2

字数：1 520 000

定价：320.00元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

译 者 名 单

石德利　广东医科大学

曹　萤　南京大学

赵　晖　香港中文大学

陈永龙　南方科技大学

谭　毅　重庆医科大学

符　辉　武汉大学

罗孟成　武汉大学

编者按

Scott Gilbert

一个生物学家、一个哲学家和一个神学家一起走进了一个酒吧。一点不错，这的确发生在芬兰的一个寒冷的夜晚。一群热情的人在听一个主持者问他们应该知道的一个最重要的故事是什么。基督教神学家说，最重要的故事是上帝对灵魂的拯救。善于分析的哲学家却不同意，认为对人类来说，最重要的故事是启蒙运动。发育生物学家知道自己应该说最重要的故事是“进化”，但进化只是另一个更重要的故事的后果。所以这个生物学家声称，最能启发灵感和最有意义的故事是胚胎怎样进行自我构建。的确，你们从一个合子的胚胎变成一个成年的生物，具备了正常分化，以及有组织的心脏、脑、肢和消化道。这是一个新奇事物是如何产生、一个人如何在自我构建的过程中保持自身特征、一些整体和局部的力量如何共同运作而形成一个功能实体的故事。这就是我们在本书里要讲的故事。

在第 9 版和第 10 版的《发育生物学》中，我们推测，动物发育的研究正处在一个急剧变化的过程中。这个领域还没有达到变形期的高峰，前几版与你手中（或电脑屏幕上）的这一版之间的一些差别就非常明显。第一个差别就体现在封面上。发育生物学一直承担着一个重大的责任，就是去发现神经的组织化及神经行为的解剖和遗传基础。这曾是发育生物学在 20 世纪初被重新定位时（尤其是受美国学者 C. O. Whitman 的影响）的任务，但由于“太复杂”和不适宜研究而被放弃。可是，目前发育神经生物学已经成为发育生物学领域里越来越重要的一部分。除了其他众多的研究以外，发育生物学对认知科学也越来越重要。

这一版与前几版的第二个区别是突出了对干细胞的讨论。干细胞最初是发育生物学中一个不甚重要的领域，关于它的研究发展迅速，目前已经形成了自身的科学团体。干细胞不仅有助于理解器官发育，也展示出器官再生这一诱人的潜力。本书中描述的近期工作显示，在实验动物中将体细胞转变成用于替代缺失和损伤组织的功能性干细胞时，发育生物学的知识至关重要。

第三个区别是体内标记使一些谱系示踪的研究发生了令人难以置信的变化。我们能够在一个早期的活体胚胎中观察每个细胞的发育，识别哪些成体细胞属于它们的后代。计算机增强的可视化使科学家能利用一些令人惊叹的新技术手段来观察胚胎发育。

第四个区别是动物发育，甚至是哺乳动物，受环境因素显著影响的观点。关于发育可塑性和微生物对正常发育的作用的数据积累在过去几年内有了极其显著的提高。

最后，第五个区别是关于讲授科学的方式。“讲台上的智者”这种教学模型使授课内容形成了从高浓度到低浓度的梯度信息流，这被辅以“身边的向导”这一教学方式。教师变成科学讨论的一个推动者或电容器，鼓励学生自己去发现信息。

的确，教育有时也被称为“发育”，而且，教育和胚胎学之间有很多相似的地方。在过去的两个世纪里，这两个领域经常互换隐喻。德语中既可用于发育也可用于教育的两个词——*Bildung*（成长教育）和 *Entwicklung*（发展或发育），分别意指通过积累经验而受到的教育和接收传授而受到的教育。这两个词都可被用于不同的情形。因此，在这一版的《发育生物学》中，我们想尽力帮助那些希望尝试新教学方法的教师们。像在胚胎学中那样，我们并没有预期一种方法对各种场合都是最佳的选择。

为了达到这些目的，本书因为增加了一个合著者而呈现出根本的变化。Michael J. F. Barresi 是干细胞、发育神经生物学，以及新的学习和教学技术方法等领域的专家。自从这本书的第一版问世以来，到现在已经有 30 年了，我希望一个年轻的教师能把这本书重新配置成一个新的教学工具，使新一代的教师用它来启发新一代的学生。这样，Michael 就参与到本书中。但 Michael 并不想只对本书做一些表面上的改变。他对本书的使命提出了一个根本性的重新展望——培养学生去领会和体验发育生物学。

Michael 说服了我们需要重新安排一些章节的顺序、增加一些章节和缩短另一些章节、改变每一章中内容介绍的方式，以及在每一章中给出更多的“翻转”课堂、实例研究和其他学习手段等附加内容。为了整合 Michael 的新思路所做出的特别思考和努力对本书的完善有很大的帮助。

在过去的十年中，另一件发生了很大变化的事情是人们已经意识到发育生物学知识对了解生物学的重要性。如果说“不考虑进化，生物学中的任何事情就说不通”，那么，现在我们发现“不考虑发育生物学，形态进化中的任何事情就说不通”。发育过程中形态发生和分化的变异能预测成体的解剖结构和生理状态的变化。

对于生物学的发展史而言也是如此。我们可以认为发育生物学发挥了一个“生物学干细胞”的独特作用，不断地再生它自身的特征，同时也产生一些向新方向分化的谱系。如 Fred Churchill 所说，细胞生物学“源自描述胚胎学”。那些细胞生物学的奠基人都曾试图去解释发育，而且他们对细胞的新见解也帮助了他们去达到这个目的。进化的最初学说是关于一些新的变异体如何产生自它们祖先的发育变化。查理·达尔文（Charles Darwin）的朋友和捍卫者——托马斯·赫胥黎（Thomas Huxley）拓展了这个观点，使它最终发展成“演化发育生物学”的领域。

同样，也是在这个维多利亚时代，发育生物学的一个分支发展变成了免疫学领域。Elie Metchnikoff（他证明了蝇的极细胞是生殖细胞前体，也研究了整个动物界的原肠胚形成）在试图寻找胚胎和幼体中胚层的一些普遍特征时为免疫学提出了一个新的细胞学说。类似地，遗传学经历了很多周折后，从研究细胞核还是细胞质含有胚胎发育决定物的一代胚胎学家传承下来。在研究果蝇之前，托马斯·亨特·摩尔根（Thomas Hunt Morgan）曾是一个研究海胆的知名胚胎学家，他著有蛙发育的教科书，也是研究再生的权威。很多早期的遗传学家在开始时都是胚胎学家，直到 20 世纪 20 年代，摩尔根才将遗传学和胚胎学分成两个领域。但“再生”却一直与发育密切相关，因为再生经常是发育过程的重演。罗斯·哈里森（Ross Granville Harrison）和圣地亚哥·拉蒙·卡哈尔（Santiago Ramon y Cajal）通过显示脑和神经元的生长而建立了“神经生物学”。目前，对神经病学的研究需要认识中枢和周围神经系统的发育起源。

医学的一些学科也来自胚胎学。畸形学（对先天异常的研究）一直在研究受到改变和受到干扰的发育，而其他一些医学的学科也可以追溯到胚胎学。癌症生物学，即肿瘤学，源于发育生物学，因为癌症一直以来都被视为一个细胞向胚胎状态的逆转并且以此来予以研究。尽管这个观点曾一度被癌症的一个严格的遗传观点所掩盖，目前它正在被癌症干细胞、肿瘤起始的旁分泌因子调节、肿瘤细胞使用的胚胎细胞迁移模式等发现所复苏和修正。一些像心脏病学和糖尿病研究的医学学科也通过一些发育的视角而正在活跃发展。一些“内分泌干扰”及“健康与疾病的发育起源”的新领域，主要关注妊娠期间所接触的环境因素如何改变成体的表型，也从发育生物学中发展出来，并且具有它们自身的范例和证据规则。

发育生物学这个干细胞在维持自身特征的同时也产生一些新的学科。干细胞生物学领域与其母学科直接关联，一些新的研究（其中很多在本书中都有描述）显示，如何引导干细胞以特定的方式分化需要认识它们的正常发育。

发育生物学与其他学科相互影响以启发出新的思维方式。例如，生态发育生物学关注发育中的生物体与它们的非生物和生物环境之间的相互作用。即便是古生物学领域也已经受到发育生物学的推动，构建出新的且常常令人惊讶的系统发育。

总之，这本教科书以一种互作的方式促进我们去感知和研究自然世界，这是一个激动人心的时刻。帕斯卡（Pascal）曾写道：“科学就像一个向未知中扩张的气球。我们知道的越多，与未知接触的范围就越

大”。发育生物学是在一个未知中有一些重要问题还需要予以回答的学科，是一个为那些准备去尝试的人们准备了新技术和新思路的学科。

致谢

在一个结点连接的图中越来越难区分出一个作者、一个策划者和一个“连接点”。这本书是一个发育和共生的有机体，它所表达的谢意要么仅能局限于一个小范围，要么遍及全球。首先，我真诚地感谢 Michael Barresi，没有他对这个计划的热心、专家性的经验和激情，本书的这一版将不会问世。

Andy Sinauer 和 Rachel Meyers 领导的 Sinauer Associates 出版社团队一直都非常出色。这些年来，我一直都很骄傲能与 Sinauer Associates 出版社合作。我也很幸运，Carol Wigg 能重新布置、重新编排和重新调整我的一些词、句子和段落。她和我一起编制了第 11 版的所有部分，尽我们最大的可能，用清晰的、易懂的和有趣的文字向学生传递发育生物学的奇妙之处。

这是一本很漂亮的书，我可以这么说，因为它并不是我亲自完成的。这应归功于 Chris Small 以及他的制作人员的才能；归功于 Jefferson Johnson 对 Adobe InDesign 的艺术性掌握；归功于 Dragonfly Media Graphics 的艺术家们的专业才能；归功于杰出的图片编辑 David McIntyre，他总是设法寻找一些不同寻常的照片，以补充我的同事们为每一版慷慨提供的精彩图片。

我有幸遇到一些杰出的学生，他们从不羞于问我一些问题。即使是现在，他们仍继续给我发“你看到这个了吗？”这样的邮件，以确定我总是在与时俱进。我也感谢那些继续给我发鼓励邮件的人们，以及那些在会议上过来跟我美言这本书并为我提供更多信息的人们。这本书是且一直是一个集体努力的成果。

我的妻子 Anne Raunio，在我们大部分的婚姻生活中忍受了我对教科书的写作，我知道，这一版撰写结束后她一定会特别高兴。的确，正当这本书即将付印时，我们的生活随着搬离史瓦兹摩尔（Swarthmore）而发生了很大的变化。如果我不致谢史瓦兹摩尔学院（Swarthmore College）这么多年来对我的支持，那么我就是太粗心大意了。这是一个令人赞叹的学术机构，把撰写教科书视为对科学界的服务，鼓励跨学科的尝试。

—S.F.G.

Michael Barresi

一个神经科学家、一个生态演化发育生物学家和一个发育生物学家一起走进了一个游泳池。一点不错，这的确发生在墨西哥旅游城市坎昆（Cancun）的一个炎热的夏天。那是在第一届泛美协会组织的发育生物学大会上，Scott Gilbert 对 Kathryn Tosney 和我提及他正在考虑为即将出版的第 11 版《发育生物学》增加一个合著者。在我蹚水走到两位主人公旁边的时候，Scott 问我对这样一个机会是否感兴趣。

他的问题给我带来了震惊、兴奋和恐惧，这三种心情几乎是按照顺序出现的。震惊，这是因为我很惊奇他是怎么想到我的，毕竟我没有每年都能发表十几篇文章，也没有 Scott 在编写每一版时所具备的那么复杂和独特的历史背景及文化视野。兴奋，那是因为这本书对我的一生有非常大的影响，能够参与到陪伴我的整个科学教育生涯的一本书中对我来说是一个真正的荣誉。然后，给我带来的恐惧是因为，就像它对于我一样，这本书对于这个领域的很多人来说的确太重要了。保持 Scott Gilbert 为这个工作所制定的标准令人望而生畏。但是，如果在 11 年的大学教师生涯中我学到了一件事情，那就是——恐惧是创新性教学和学习的最主要障碍。

我接受了 Scott 把我作为合著者的建议，因为这提供了一个在全世界范围内如何影响这门学科授课的机遇。我对这本书中所有方面的热情是无止境的，并且我也热切地期望去改进所有学生的学习过程。这

绝对不是要取代 Scott Gilbert，我也不能自称是 Scott 的对等者。我能够做的是为这一版和未来版的《发育生物学》提供一个建立在 Scott 的准确性和风格之上的互补方法，赋予学生在学习发育生物学时更多的创造性和一个整体的观念。

教科书和课堂有一些共同之处。两者都不能在这个数字化的时代仅作为信息的载体而生存下来：具有密集内容的书页加上更密集的授课不是一个“深度”学习的有效方法。已有不可抗拒的证据显示，一些真正活跃的教学方法能为概念性的认知提供更有效的增益、更长时间的素材保存、更好的解决问题的能力，以及赋予科学、技术、工程和数学专业的学生更大的毅力，尤其是针对那些准备不充分的学生（Waldrop 2015；Freeman et al. 2014；Michelene et al. 2014）。我希望我的学生和你们不是通过简单地记忆教科书或紧张地抄写幻灯片上的内容来学习发育生物学的核心概念，而是去亲身体验这些概念如何能够解释已知和未知的发育现象。如何改编一本教科书以支持教师去实现有效主动的教学方法，以及鼓励学生变成主动的学习者？

在课堂上以获取概念和培养解决问题的技能为目标的有效主动学习锻炼是具有挑战性的。一些潜在的挑战包括我们缺少能为学生提供的一些活动和教师缺乏对实施这些练习的培训、课堂时间的不足（不管是事实还是感觉）、学生对参与新的和具有挑战性活动的排斥、学生的课前准备工作参差不齐，以及一系列相关的忧虑。

我们改变了第 11 版的《发育生物学》以便使教学对教师和学生来说都转变成一个主动的经历。在很多章中，Scott Gilbert 和我都撰写并制备了“发育辅导课”，是一些用来解释发育基本原理的短视频（10 ～ 20 min）。这些专业化录制的视频旨在传递一些基本量的课外内容，为教师提供一个实施“翻转”课堂的途径（见 Seery 2015）。

为了符合“翻转”课堂的另一半课内部分，我们撰写了一套伴随“发育辅导课”的实例研究问题以鼓励小组形式的学习途径。在实施一个实例研究活动之前，先考虑让学生去阅读特定一章的“要点”及相关的“发育辅导课”。做这些工作不会花学生很多时间，所以教师就可以预期学生进入课堂时都会接触到一些基本量的课堂内容，足以使他们活跃地参与解答个案分析。因为读者兴趣的需求，我们计划在未来增加更多的“发育辅导课”和“个案分析”。我们很兴奋看到“发育辅导课”和一些“个案分析”的问题如何被予以调整以满足你们的课程所预期的学习目标，尤其是我，非常愿意与教师合作，帮助他们建立这些新的活跃学习的资源。

传统上，一本教科书的作用是给学生介绍一个特定领域里的核心概念，但我并不认为这应该是教科书的唯一作用。学生在阅读时通常是第一次接触课目的内容。教科书可以充分利用这个机会，使我们去捕获学生的好奇精神、为他们建立讨论和提出关于课目问题的自信心，以及促进他们在相关领域中以确定的身份去进一步学习。在一个特定科学领域获得认同感起始于能够进行对话的能力。可惜的是，对于一个初始学习“真相”的学生来说，最困难的障碍是表达出能够打开一个实际性交流大门的一些问题。

第 11 版中有一些独特的机制，其目的是使学生活跃地参与到发育生物学领域中。在每一章中，“拓展性问题”是针对所涵盖的问题进行未来研究的建议性延伸和潜在方向。它们也间接地提供了思维方式的模型和发育生物学家可能问的一些问题。如果学生们能在课堂上以一种活跃气氛的形式重复这些问题，起始或进一步讨论，或以这些问题为起点自行查阅额外的文献，那么这些问题将会是一个巨大的成功。很抱歉，对于很多这些问题目前并没有确切的答案。但是，它们是用来鞭策课堂中的互作和引导学生参与到实际研究中来的。我们不能低估发现的兴奋具有激发学生兴趣的潜力。学生也了解测试题和课堂提问之间的区别。为了这个目的，每一章在结束时都有一个“下一步的研究”；它们与“拓展性问题”有类似的作用，除此之外，它们还试图对这个领域的发展方向给予一个更广阔的视野。我们的期望是学生们能把“下一步的研究”作为他们进行独立研究的逻辑性切入点。

第 11 版的另一个目标是引入当今生物学家的真切声音。“科学家讲座”是链接在整本书中的一个新资源，为学生（以及教师）提供直接听取一流发育生物学家的谈话录音。很多讨论都是一些新近以及开

创性论文的主导研究者与我在史密斯学院（Smith College）的学生们通过网络会议技术进行的。对于学生来说，这种资源的独特益处是与科学家们高度平易近人的对话，以及他们的同龄人问及的一些丰富多彩的问题，通常，学生们也只信任他们的这些同龄人。

我衷心希望这些资源能加深学生们的参与，提高他们交流的自信心，我也真心邀请每个人在这个最让人惊叹的发育科学中成为一个重要的参与者。

致谢

我谨向 Mary Tyler 表示特别和衷心的感谢！作为我撰写的那些章节的内容编辑，她起到了关键作用。这些年来 Mary 对这本教科书一直都是情有独钟，她的思维方式帮助我在这一新版中完成了过去和现在的完美均衡。谢谢你，Mary，谢谢你所有的支持和明确、实际性的建议！

发育生物学领域日益扩展，并且科研的步伐看似也正在以指数的方式加速。如果没有此后列出的专家审稿人的敏锐监督，这一综合版也是不可能完成的。感谢 Johannah Walkowicz 持久性的独特协调能力和她在安排审稿人时予以的帮助！我还要特别感谢 Willy Lensch 和 Bill Anderson，他们花了大量的时间与我讨论干细胞的领域，直接影响了新一版中干细胞这一章的组织。

Sinauer Associates 出版社一流的团队一直都让我感到非常惊讶。Andy Sinauer 将我完全纳入到这个家庭，我也深感受宠若惊。他对我所有想法的开放性思考是我决定合著这本书的关键因素；谢谢你，Andy，谢谢你的支持和组织了这样一个特别令人惊讶的优秀团队！首先是 Azelie Aquadro Fortier，然后是 Rachel Meyers，监督了整版书的付印，二人自始至终地为我提供了真诚的鼓励和支持。Carol Wigg、Sydney Carroll 和 Laura Green 共同给予了精确的编辑视野，尤其是对我这样一个疲惫的、四个孩子的父亲和第一次成为作者的人。你们的决心和在这个项目中花费的同样长的时间使令我自豪的这本书得以出版，这都是因为有了你们的贡献。

我衷心地感谢 Sinauer Associates 出版社的艺术总监 Chris Small 和 Dragonfly Media Graphics 整个小组为制作这样一个漂亮的艺术方案所付出的能量和时间。他们还得来对付我这样一个具有过分保护性的视觉艺术家，很可能会对自己的原始绘图中出现的一些变化太过于挑剔！感谢你们的耐心。我还要再次感谢 Chris，以及 Joanne Delphia 和 Jefferson Johnson，为这本书做出的卓越设计和布局。感谢 David McIntyre 帮助查找和获取很多新的图片。

一本新书只有在战略营销的帮助下才能到达学生的手中，Dean Scudder、Marie Scavotto 和 Susan McGlew 在突出这本书的所有新特点时做得非常出色。感谢你们总是设法将我这个新作者的最好的一面呈现出来。特别感谢 Jason Dirks，以及所有在 Sinauer 出版社媒体和副刊部工作的人们，他们设计了具有吸引力的网站，为寻找最佳的方式来介绍本书中所有的互作特点，与我一起集思广益。

我也不能忘记史密斯学院的支持。这使我编制和传播了本书中所用的“网络话题”、“观察发育”和“发育辅导课”。Kate Lee 的奉献和才能，以及史密斯学院的教育技术服务系的整体支持使我得以编制所有这些具有特色的工作。我还要致谢所有的科学家们这些年来自愿花时间与我的学生们讲述他们的研究。希望你们这些共享的认知能使更多的学生受益。

对于我在史密斯学院的学生们，不管是在课堂上还是在我实验室中，感谢你们能成为我的合作者和我曾有过的最好的教师。你们的热情、努力工作和大胆想法使我值得去做所有的这一切。

在我们的人生中有很多事情如果没有家庭的支持就不可能实现。但是，在我的经历中，我从来也没有像完成这个任务那样更依赖于我的家人。我的家庭中所有人都为了这个工作的需求做出了真正的奉献。在我的书中，你们都是我的合著者！感谢你们无条件的爱和支持。

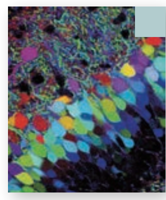
—M.J.F.B.

目　录



第 1 章 新个体的形成

发育的组织化机制 1



第 2 章 特征的特化



第 3 章 差异性基因表达

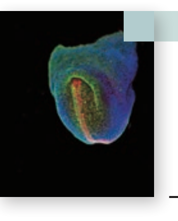
第 5 章
干细胞

第 6 章 性别决定和配子发生 169

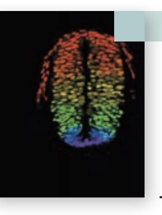
第 7 章 受精 一个新生物体的开始 201

第 8 章 蜗牛和线虫的快速特化 233

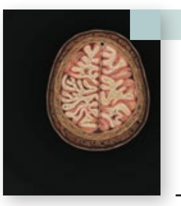
第 9 章
果蝇体轴特化的遗传学



第 12 章 鸟类和哺乳类 351

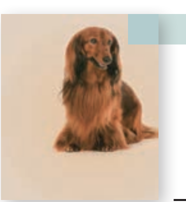


第 13 章 神经管的形成和图式化 381



第 14 章 脑生长 403

第 15 章 神经嵴细胞和轴突特异性



第 16 章 外胚层基板和表皮 475

第 17 章 轴旁中胚层 体节及其衍生物 497

第 18 章 居间中胚层和侧板中胚层

心脏、血液和肾 535

第 19 章 四足动物肢的发育

563



第 22 章 再生

第 23 章 老龄化和老年化

第 24 章 健康和疾病中的发育

出生缺陷、环境激素和癌症

第 1 章

新个体的形成

发育的组织化机制

一只蝌蚪变成蛙时什么保持不变？什么发生了改变？

从受精到出生，这个时期的发育生物体被视为胚胎。胚胎这一概念非常令人好奇。我们每个人都是从一个单细胞的胚胎开始发育的，你需要在肺形成之前能够呼吸，在有消化道之前能吸收营养，在你还是柔软一团的时候就开始构造骨骼，在你还不会思考的时候就形成有序排列的神经元。你和一台机器的本质差别之一就是，一台机器只在被制造完成以后才能开始运转，而每个多细胞生物体在建造的过程中就必须行使功能。很多人类胚胎在出生之前都夭折了，但你存活下来了。

多细胞生物体不需要完全成形后才呈现出来；相反，它们通过一个逐渐变化的缓慢过程而产生，这个过程我们称之为**发育**（**development**）。在几乎所有的情况下，多细胞生物的发育起始于一个单细胞，即受精卵或**合子**（**zygote**）。这个细胞通过有丝分裂产生身体的所有细胞。对动物发育的研究通常称之为**胚胎学**（**embryology**），是针对受精和出生期间的生物体的研究。但是发育并不是在出生，甚至是成体时就停止了，很多生物体一直处在发育的过程中：我们每天都要替换掉 1 g 以上的皮



要点

动物发育以受精卵向身体多种细胞类型的分化及功能性整合器官的建造为特征。发育是生物体从基因型出发到表型产生的一个途径，可以从分子到生态系统的任何组织水平上进行研究。发育的过程包括受精、卵裂、原肠胚形成、器官发生、变态、再生和衰老。这些过程是科学研究中的一些极为重要的问题之来源，其中一些问题包括：各种各样的细胞类型（如血细胞、神经元、胰腺细胞等）是如何产生的？它们之间如何变得不一样？细胞如何组织成有功能的器官？器官如何知道它们的正确大小？生物体如何制造出具有生殖能力的细胞？生物体如何再生一些组织和缺失的部分？生物体如何整合来自环境的信息以正常发育？发育的途径如何变化以产生新类型的生物体？

肤细胞（老的细胞在我们运动时蜕掉）；在我们生命过程的每一分钟，骨髓都在维持几百万个新的红细胞的发育；有些动物可以再生身体的缺失部分；许多物种需要经历变态（如蝌蚪变成蛙、毛虫变成蝴蝶）。因此，近年来人们用发育生物学来代表研究胚胎和其他发育过程的学科。

1.1 "你是怎样的？"——发育生物学问题的来源

首个已知的胚胎学家亚里士多德（Aristotle）说过，好奇是知识的来源。动物发育——这个亚里士多德很熟悉的问题，是一个非常使人好奇的源泉。发育，这种由相对均一的物质形成一个有组织的机体，激发了自从出现自我意识以来现代人（*Homo sapiens*）提出一些最深刻和最根本的问题：身体形成时如何总是让头部位于双肩之上？心脏为什么总是在身体的左边？一个简单的神经管如何变成能产生思想和运动的复杂的脑和脊髓？为什么我们不能长出新的肢体？两性如何发育出不同的解剖结构？

我们要回答这些问题就必须遵循疑问的复杂性，并需要解释从基因到功能器官的一个逻辑性因果关系网络。对于一个发育生物学家来说，只说明具有两个 X 染色体的哺乳动物是雌性，而具有 XY 染色体的哺乳动物是雄性，还不能解释性别决定的机制。发育生物学家想知道 XX 基因型如何产生雌性，而 XY 基因型如何产生雄性。同样，一个遗传学家可能会问珠蛋白的基因如何从一代传到下一代；一个生理学家可能会问珠蛋白在体内如何发挥功能。但是，发育生物学家要问的问题是珠蛋白的基因如何只表达在红细胞，而且这些基因如何只在一些特定的发育时期才行使功能。目前我们对于这些问题还没有全部的答案。生物学领域是针对一些特定问题的研究，在一定程度上，我们的研究领域也取决于自己所感兴趣的问题。以下是一组极其精彩和极其重要的发育生物学问题！

发育要达到两个主要的目标。首先，发育在一个生物体中产生细胞的多样化和秩序；其次，它确保生命从一代到下一代的连续性。换一个表述方式，发育生物学有两个最根本的问题：受精卵如何构建成一个成体？这个成体如何再产生另一个成体？这些庞大的问题可以细化成几类备受发育生物学家关注的问题。

- 分化问题　　一个单细胞，也就是受精卵，能产生几百种不同的细胞类型，如肌细胞、神经元、晶状体细胞、淋巴细胞、血细胞、脂肪细胞，等等。细胞多样化的产生称为**分化**（**differentiation**）。因为体内的每个细胞（除极少数外）都具有相同的一套基因，那么相同的一套遗传指令如何产生各种各样的细胞类型？一个单细胞的受精卵如何产生那么多不同类型的细胞？[1]
- 形态发生问题　　我们体内的细胞如何组织成有功能的结构？这些分化的细胞不是随机分布的，相反，它们被编排成错综复杂的组织和器官。在发育过程中，细胞要经历分裂、迁移和死亡；组织要经历折叠和分离。我们的手指永远处在手的端部，而从不在中间；我们的眼睛永远长在头上，而不是长在脚趾上或肠上。创建有序的形态称为**形态发生**（**morphogenesis**），它涉及协调性的细胞生长、细胞迁移和细胞死亡。
- 生长问题　　我们脸上的每个细胞如果再经历一次分裂的话，我们将会被视为极其可怕的畸形。我们手臂上的每个细胞如果再经历一次分裂，我们可能不用弯腰就能系鞋带。我们的细胞怎么知道什么时候停止分裂？我们身体两侧的手臂一般都是一样的大小，细胞分裂是如何严格调控的？
- 生殖问题　　精子和卵子是高度特化的细胞，只有它们才能一代又一代地传递指令来产生一个生物体。这些生殖细胞与其他细胞有何不同？在它们的细胞核和细胞质中有什么指令让它们去形成下一代？

---

[1] 在一个成人中能识别出 210 多种不同类型的细胞，但这个数字并不能告诉我们一个人体在发育过程中产生多少种细胞类型。一个特定的细胞能在发育过程中起很多作用，但在成体中这些功能不再出现。另外，一些细胞类型的作用是激活邻近细胞的基因表达，一旦这个功能完成后，这些起激活作用的细胞便会死亡。例如，初级脊索细胞甚至都没有被列在医学组织学的教科书中。在完成任务后，多数的脊索细胞开始程序性死亡以不干扰进一步的神经发育。因为这种细胞类型不在成体出现，所以只有发育生物学家才知道这些细胞和它们的重要性。

- 再生问题　有些生物体可以再生身体的每一个部分。一些蝾螈能再生它们的眼睛和腿，而很多爬行动物可以再生它们的尾部。虽然哺乳动物一般缺乏再生能力，但我们身体的一些细胞，即**干细胞**（**stem cell**），即便是在成体中也能形成新的结构。干细胞如何保持这个能力？我们是否能利用它们来治疗衰弱疾病？
- 环境一体化问题　很多（或许是所有）生物体的发育都会受到胚胎或幼体周围环境因素的影响。例如，很多种类海龟的性别由胚胎在卵内所经历的温度所决定。一些昆虫的生殖系统的形成取决于卵中传播的细菌。此外，一些环境中的化合物能干扰正常的发育，使成体出现畸形。一个生物体的发育是如何被整合到它所栖息的环境这个更大的背景之中的？
- 进化问题　进化涉及发育中可遗传的变异。当我们说如今的单趾马起源于一种五趾的祖先马时，我们的意思是，在祖先马的胚胎中发生了许多代软骨和肌肉发育的变异。发育的变异如何产生新的体型？鉴于一个生物体在它的发育过程中受到必须存活下来的制约，哪些遗传变异是可以被接受的？

发育生物学家提出的问题在分子生物学、生理学、细胞生物学、遗传学、解剖学、癌症研究、神经生物学、免疫学、生态学和演化生物学中显得至关重要。发育的研究对了解所有其他生物学领域也是必不可少的。反过来，分子生物学领域的众多进展，以及细胞成像的新技术，最终使这些发育生物学问题能够得以解答。这是非常令人振奋的，因为正如诺贝尔奖获得者、发育生物学家汉斯 • 斯佩曼（Hans Spemann）在 1927 年所说，“虽然我们站在很多难解之谜面前，但不是没有予以解答的希望。况且，对于有希望找到答案的难解之谜，这不正是科学家最渴望的事情吗？”

因此，我们带着问题而来。这是早一代生物学家、学者和父母留给我们的问题；是一些具有独特故事的问题；也是一些被先驱者们，如亚里士多德（Aristotle）、威廉 • 哈维（William Harvey）、大阿尔伯特（St. Albertus Magnus）和查理 • 达尔文（Charles Darwin），在解剖学水平上讨论过的问题。近些年来，这些问题被世界各地的学者们在细胞和分子水平上进行了研究，每个人都为实验室贡献了他 / 她自己的思路和技能。因为没有一种固定的成长为发育生物学家的途径，这个领域的发展得益于一些具有细胞生物学、遗传学、生物化学、免疫学，甚至人类学、工程学、物理学和艺术学经历的研究人员。

1.2　生命周期

对于动物来说，从卵变为成体的唯一方式是使胚胎进行发育。真菌和植物的情况也类似。胚胎是基因型转变成表型的场所，是遗传下来的基因通过表达而产生成体的位置。发育生物学家一直觉得从卵到成体这个过渡时期尤其令人感兴趣。发育生物学研究生物体的构建，它是一个变化的科学、一个进程式的科学。

描述胚胎学的主要成就之一就是产生了概括性动物生命周期的概念。现代发育生物学探索这个生命周期中发生的基因表达和解剖结构的变化。每个动物，不管是蚯蚓还是鹰、白蚁还是猎犬，都经历类似的发育阶段：受精、卵裂、原肠胚形成、器官发生、出生、变态和配子发生。从受精到孵化（或出生）这个时期统称为**胚胎发生**（**embryogenesis**）。

1. **受精**（**fertilization**）是成熟的性细胞，即统称为**配子**（**gamete**）的精子和卵子之间的融合。配子的融合刺激卵开始发育和起始一个新的个体。随后，配子细胞核，即雄性和雌性**原核**（**pronucleus**，每个核只含有物种特异的总染色体数目的一半）之间的融合给予胚胎一个完整的基因组。这个基因组含有指令胚胎以类似于它们亲代的方式进行发育的所有基因。
2. **卵裂**（**cleavage**）是紧接着受精后发生的一系列特别快速的有丝分裂。在卵裂过程中，体积巨大的合子细胞质被分割成大量的小细胞，称为**卵裂球**（**blastomere**）。在卵裂结束后，这些卵裂球通常会形成一个球，称为**囊胚**（**blastula**）。

3. 当有丝分裂速度减慢后，卵裂球开始经历显著的运动，改变它们相互之间的位置。这些全面的细胞重排称为**原肠胚形成**（**gastrulation**），这时的胚胎处在**原肠胚**（**gastrula**）时期。由于原肠胚形成的结果，胚胎有了三个**胚层**（**germ layer**），即**外胚层**（**ectoderm**）、**中胚层**（**mesoderm**）和**内胚层**（**endoderm**）。这三个胚层相互作用以形成身体的各种器官。
4. 在三个胚层建立之后，细胞之间相互作用并自身发生重置以形成组织和器官，这个过程称为**器官发生**（**organogenesis**）。三个胚层中的细胞之间进行化学信号交换，在特定的位置形成特定的器官。一些细胞还将经历长距离的迁移，从它们最初的位置到达最终的目的地。这些迁移细胞包括血细胞前体、淋巴细胞、色素细胞和配子（卵子和精子）。
5. 在很多物种，从卵里孵化出来或出生来到这个世界的生物体还没有性成熟。相反地，这个生物体需要经历**变态**（**metamorphosis**）才能变成一个性成熟的成体。在大多数动物中，幼小的生物体被称为**幼体**（**larva**），它与成体的形态有明显的差别。在很多物种中，幼体持续的时间很漫长，这是为了进食和扩散。在这些物种中，成体只是一个短暂的时期，其唯一的目的就是为了生殖。例如，蚕蛾的成体没有口器，不能进食，因此幼体必须摄取足够的食物以便为成体提供存活和交配的储存能量。的确，多数雌蛾一从蛹中羽化出来就进行交配，它们只飞一次，把卵产下来，然后就死亡了。
6. 在很多物种，一类细胞被专门留下来用于产生下一代（而不形成当代的胚胎），这些细胞是配子的前体。配子和它们的前体细胞统称为**生殖细胞**（**germ cell**），专职生殖功能。身体的所有其他细胞称为**体细胞**（**somatic cell**）。体细胞（形成一个独立的个体）和生殖细胞（为了产生新的一代）之间的分离经常是动物发育过程中最早发生的分化事件之一。生殖细胞最终迁移到生殖腺，它们在那里分化成为配子。配子的发育称为**配子发生**（**gametogenesis**），一般直到一个生物体在身体成熟之后才能完成。配子成熟后被释放并参与受精，以启动一个新的胚胎。成体最终经历衰老和死亡，它的营养物经常被用于维持其后代的胚胎发生，而且它的离去可以减少竞争。因此，生命周期又重新开始。

发育辅导课　人格　**Scott Gilbert 讨论人的生命周期，以及在这个周期的什么时候可以说胚胎获得了“人格”。**

网络话题 1.1　**人在什么阶段才能成为具有人格意义的人？**　科学家对于这个问题给出了不同的答案。受精、原肠胚形成、脑功能的最初迹象、出生的前后，每个时期都有支持者认为是人格的起点。

1.3　范例：蛙的一生

所有动物的生命周期都是以上所归纳的过程的修改版本。在这里我们将介绍一个具体的例子——豹蛙（*Rana pipiens*）的发育（**图 1.1**）。

1.3.1　配子发生和受精

一个生命周期的结束与下一个生命周期的开始是紧密相连的。生命周期也通常受环境因素的限制（蝌蚪不能在秋天孵化，因为那时它们的食物已经开始死亡），因此在多数蛙中，配子发生和受精是季节性的事件。光周期（白天的时间）和温度的结合使雌蛙的垂体得知春天来了，而来自垂体的分泌物使卵和精子成熟。

多数种类的蛙是体外受精（**图 1.2A**）。雄蛙爬在雌蛙的背上使其产的卵受精（**图 1.2B**）。一些种类的蛙将卵产在池塘的植物上，卵的胶膜粘在植物上使卵固定在上面。而其他种类的蛙卵则漂浮在池塘中央，

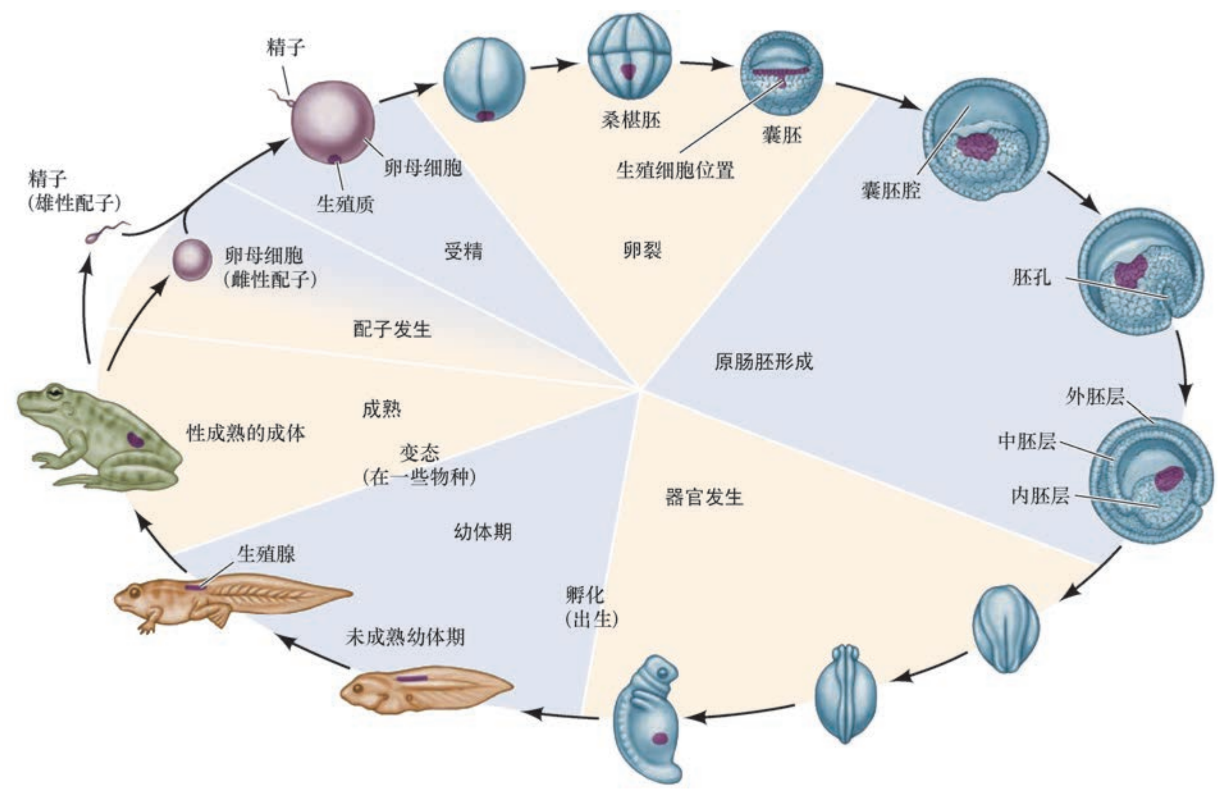


图 1.1　豹蛙（*Rana pipiens*）的发育过程。从受精到孵化（出生）的所有时期统称为胚胎发生。专职形成生殖细胞的区域用紫色标注。在性成熟的成体中完成的配子发生，根据物种的差异，起始于发育的不同时期（图中多色楔形的大小是任意的，与生命周期各个阶段所持续的时间没有对应关系）。

袖珍指南

我们在两栖类部分将会看到，蛙具有脊椎动物生命周期中最为显著的一些特征。

没有任何支撑。因此，在这里要明确的一个重要事情是，生命周期与环境因素密切地联系在一起。

受精建立性别（遗传重组）和完成生殖（一个新个体的产生）。单倍体的雌雄原核融合形成一个二倍体的合子细胞核。另外，精子入卵促使受精卵中细胞质的运动，这个运动对决定蛙的三个体轴起至关重要的作用。这三个体轴包括前 - 后轴（头 - 尾）、背 - 腹轴（背面 - 腹面）和左 - 右轴。此外，还有一点很重要，受精激活了一些对起始卵裂和原肠胚形成所必需的分子（Rugh 1950）。

1.3.2　卵裂和原肠胚形成

在卵裂过程中蛙卵的体积没有变化，但它分裂成几万个细胞（图 1.2C，D）。在蛙中，原肠胚形成起始于相对精子入卵点大约 180° 的位置，在这个位置的卵表面形成一个称为**胚孔**（**blastopore**）的凹陷（图 1.2E）。胚孔标志胚胎未来的背部，并扩展形成一个环。通过胚孔迁移到胚胎内部的细胞变成中胚层和内胚层；一直处在胚胎外部的细胞变成外胚层，并且这些细胞通过扩展将胚胎包裹起来。因此，在原肠胚形成结束时，外胚层（表皮、脑、神经的前体）位于胚胎的外部，内胚层（肠内壁和呼吸系统的前体）位于胚胎的最内部，而中胚层（结缔组织、肌肉、血细胞、心脏、骨骼、生殖腺、肾的前体）位于内、外两个胚层之间。

1.3.3　器官发生

蛙的器官发生起始于中胚层最背部的区域致密而形成的一个细胞棒，称为**脊索**（**notochord**）[2]。这些

[2] 尽管成体脊椎动物不再有脊索，但这个胚胎器官对建立其上部外胚层细胞的命运是至关重要的，这将在第 13 章中描述。

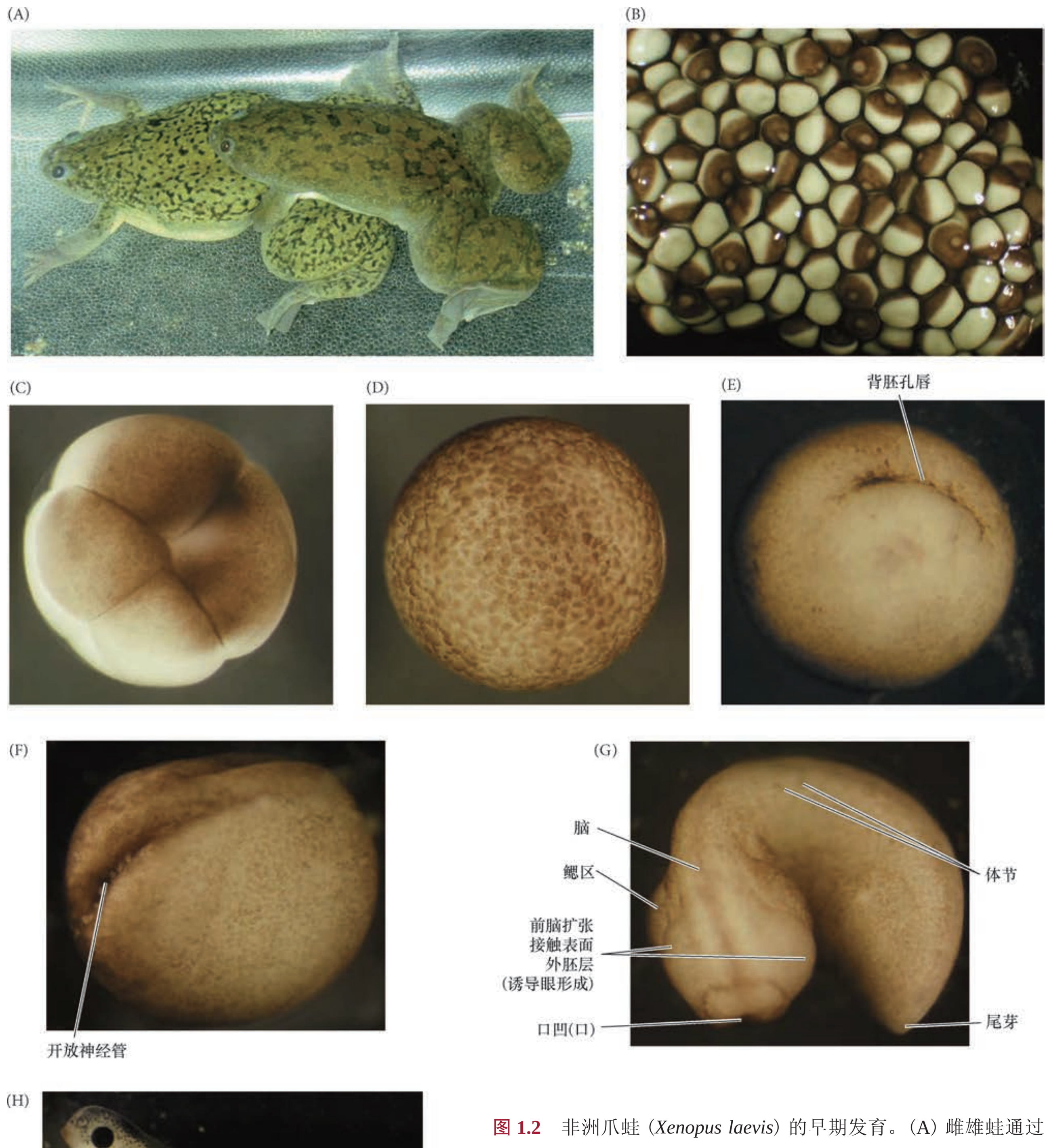


图 1.2 非洲爪蛙（*Xenopus laevis*）的早期发育。（A）雌雄蛙通过抱合求偶，雄蛙在雌蛙的背上抓住其腹部并使其产出的卵受精。（B）新产的一堆卵，细胞质已经发生转动，使细胞核位于卵中色素更深的位置。（C）一个 8 细胞期的胚胎。（D）一个具有几千个细胞的晚期囊胚。（E）一个早期的原肠胚，可以看到中胚层细胞和部分内胚层细胞通过背胚孔唇的运动。（F）一个神经胚，神经褶在背中线处汇集，建立神经管。（G）一个孵化前的蝌蚪，前脑向外突出后开始诱导眼的形成。（H）一个成熟的蝌蚪，已经游离卵群，开始自行进食（由 Michael Danilchik 和 Kimberly Ray 提供）。

脊索细胞产生化学信号，重新安排其上部外胚层细胞的命运，因此脊索上部的外胚层细胞受到指令形成神经系统细胞，而不再变成表皮。这些细胞改变它们的形状，从一个圆的胚体上隆起（图 1.2F），这个时期的胚胎称为**神经胚**（**neurula**）。神经前体细胞伸长、伸展，然后褶入胚胎内部，形成**神经管**（**neural tube**），而胚胎背部的表皮细胞覆盖神经管。

一旦神经管形成后，它和脊索便诱导邻近区域的细胞发生变化，并且器官发生也继续进行。邻近神经管和脊索的中胚层组织分节形成**体节**（**somite**），是蛙背部肌肉、脊椎和真皮（皮肤的内层成分）的前体。然后胚胎发育出口和肛门，并伸长形成我们所熟悉的蝌蚪结构（图 1.2G）。神经元与肌细胞及其他神经元形成连接，鳃形成，幼体可以从卵中孵化出来。孵出的蝌蚪在母体提供的卵黄消耗殆尽后将自行进食。

1.3.4　变态和配子发生

一个完全水生的蝌蚪幼体通过变态变成一个能在陆地生活的成体蛙，这是在所有生物学中最显著的转变之一。几乎每个器官都经历了改变，在形态上所产生的变化极其突出和明显（图 1.3）。随着蝌蚪扁板状尾的退化，用于运动的后肢和前肢开始分化。蝌蚪的软骨性颅骨在幼蛙中被绝大部分骨质颅骨取代。蝌蚪用于撕碎池塘植物的坚硬牙齿也随着口和颌的形状改变而消失，而蛙中的捕蝇舌肌却发育出来。同时，蝌蚪中很长的肠（食草动物的特征）变短以适应成体蛙的多肉性食物；鳃开始衰退，但肺变大。两栖类的变态受蝌蚪中甲状腺分泌的激素所启动；甲状腺激素导致这些变化的机制将在第 21 章予以描述。变态的速度取决于环境压力。例如，在气候温和的地域，豹蛙的变态必须在冬天池塘结冰前进行。一个成体的豹蛙可以钻入泥中度过冬天，但它的蝌蚪却不行。



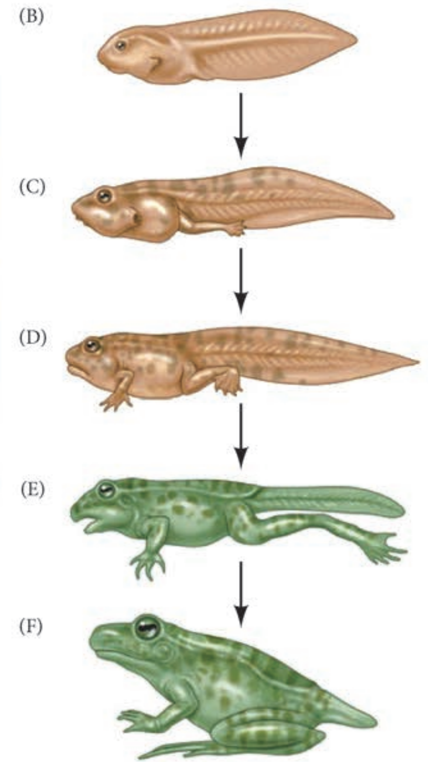


图 1.3　蛙的变态。(A) 牛蛙的蝌蚪和成体相比有显著的变化，尤其是颌的结构和肢。(B) 变态前的蝌蚪。(C) 变态起始的蝌蚪，显示后肢的生长。(D) 前肢出现时变态高峰期开始。(E，F) 变态高峰期 (Patrice Ceisel/Visuals Unlimited 版权所有)。

随着变态的结束，生殖细胞（精子和卵子）开始发育。配子发生能持续很长时间。豹蛙卵在卵巢中需要三年的时间才能成熟。精子成熟所需要的时间较短；雄性豹蛙在变态完成之后不久就已经性成熟。生殖细胞在成熟前必须有能力完成**减数分裂**（**meiosis**）。经历减数分裂后，精子和卵子的核才能在受精过程中结合，恢复二倍体的染色体数目，并启动一些引起发育和延续生命周期的事件。

1.4 比较胚胎学

受精卵没有心脏，但心脏是从哪里来的？是不是心脏在昆虫和脊椎动物中都是以同样方式形成的？心脏在这两类动物中的发育有什么相似和不同的地方？形成鸟翼的组织与形成鱼鳍或人手的组织有什么关联？很多发育生物学的问题都属于这种类型，并且它们来自这个领域里的胚胎学传承。亚里士多德是已知的第一个进行比较发育解剖学研究之人。在《动物的生成》（大约公元前 350 年）这本书中，他注释了生命周期的一些差异：有些动物出生自卵，即**卵生**（**oviparity**），如鸟、蛙和大多数物脊椎动物；有些是活生，即**胎生**（**viviparity**），如胎盘哺乳动物；另有一些动物是将卵在体内孵化出来，即**卵胎生**（**ovoviviparity**），像一些爬行动物和鲨鱼。亚里士多德还鉴别出胚胎形成的两种主要细胞分裂方式：**完全卵裂**（**holoblastic**）方式（整个卵被逐渐分成更小的细胞，如蛙和哺乳动物）和**不完全卵裂**（**meroblastic**）方式（例如，在鸟类中只有一部分卵会变成胚胎的本体；而另外一部分，即卵黄，为胚胎提供营养）。如果有人想知道是谁第一个明白了哺乳动物胎盘和脐带的功能，答案是亚里士多德。

在亚里士多德之后的两千年内胚胎学研究几乎没有多少进展。直到 1651 年威廉 • 哈维（William Harvey）才得出了所有动物，甚至是哺乳动物，都来自卵的结论。*ex ovo omnia*（“所有都来自卵”）是哈维在他的《生物的生成》这本书的卷首插画中的主题句，这排除了动物自发地产生于泥土或粪便的假设[3]。哈维还是第一个看到鸡胚胎胚盘的人（胚盘是卵的一个小区域，含有形成胚胎的无卵黄细胞质），也是第一个注意到“血岛”组织在心脏之前形成的人。哈维还认为羊水可能为胚胎行使“减震器”的功能。

正像可以预期的那样，在人们用于详细观察的显微镜被发明之前，胚胎学仍处于初始和推测的阶段（**图 1.4**）。马尔皮基（Marcello Malpighi）在 1672 年发表了第一个鸡胚胎发育的显微镜记录报告。在这个报告中，他首次鉴定了神经沟（神经管的前体）、形成肌肉的体节，以及动脉和静脉流入与流出卵黄的初始循环。

1.4.1 后成说与先成说

马尔皮基参与了胚胎学中最激烈的辩论之一：其争议点集中在胚胎的器官在每一代是否重新形成（“从头开始”），还是早就以微小的形式存在于卵（或精子）。第一个观点是**后成说**（**epigenesis**），受亚里士多德和哈维的支持；第二个观点是**先成说**（**preformationism**），这个观点因为受到马尔皮基的支持而重新活跃起来。马尔皮基显示未孵化的鸡卵已经含有很多结构[4]，这个观察使他质疑后成说，并拥护先成说学者的观点。根据这个学说，成体的所有器官都以一个微小的形式预制在精子或（主要是）卵里。生物体不是构建出来的，而只是“铺开”或“展开”。

先成说学者的观点有 18 世纪时的科学、宗教和哲学作为后盾（Gould 1977；Roe 1981；Churchill 1991；Pinto-Correia 1997）。首先，如果所有的器官都是预制的，胚胎发育则仅需要已有结构的生长，不需要形成新的结构。胚胎发育也不需要额外的神奇力量。其次，就像一个成体生物被预制在生殖细胞中那样，另一代也是以一个预制的状态存在于前一个预制一代的生殖细胞中。先成说学者没有细胞学说为预成生物的大小提供一个下限（因为细胞学说直到 19 世纪中期才出现）。

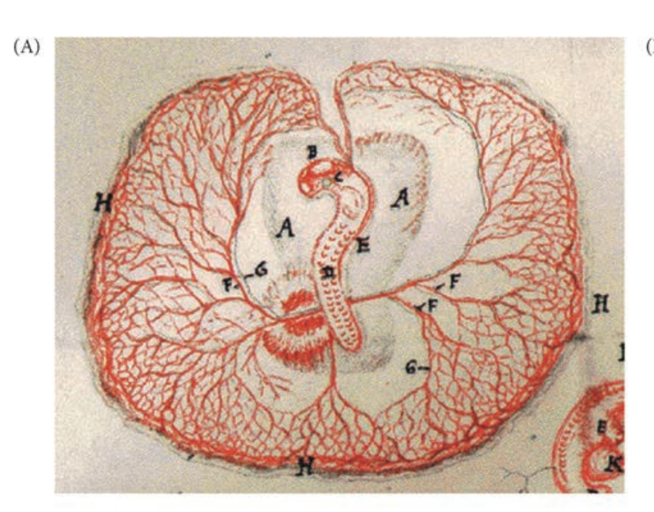
先成说的主要不足是不能解释被当时有限的遗传证据所揭示的世代间差异。例如，那时已经知道白色和黑色父母的孩子将会有居中的皮肤颜色，如果遗传和发育仅是通过精子或卵子，上面的可能性将是

---

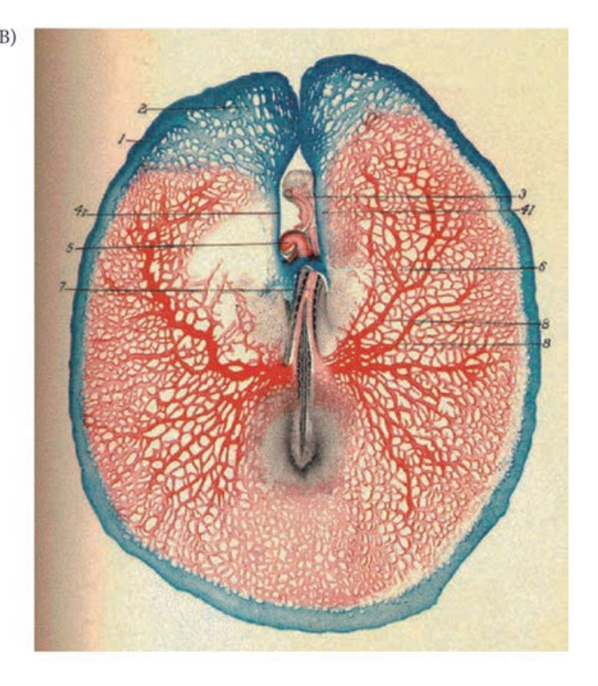
[3] 哈维对这个问题没有轻描淡写，因为他知道这与亚里士多德的观点相悖，并且哈维对亚里士多德也很崇敬。亚里士多德曾提出月经液形成胚胎，而精液给予形态和活力。

[4] 正如 Maitre-Jan 在 1722 年指出的那样，马尔皮基观察的卵在技术上可被认为是“未孵化”，但这些卵是放在 8 月份意大利北部城市波伦亚（Bologne）的太阳下，所以它们并非没有被加热。这些卵可能已经发育成了小鸡。

(A)



(B)



(C)



图 1.4　鸡胚胎发育的解剖学描绘。(A) 一个鸡胚胎在产卵 2 天后的背部观（从将要变成的背部向“下”看），由马尔皮基在 1672 年所描绘。(B) 一个类似时期的鸡胚胎的腹部观（从腹部向“上”看），这是在解剖镜下观察到的结构，由 F. R. Lillie 在 1908 年制作。(C) 一个接近 2 天、产卵后大约 45 h 的鸡胚胎背部观。心脏在第 2 天时开始跳动。这个胚胎的血管系统是通过向循环系统中注射荧光微珠被显示出来的。胚胎的立体感是因为叠加了两个独立的图像（A 图来自 Malpighi，1672；B 图来自 Lillie，1908；C 图为 Vincent Pasque，Wellcome Images 版权所有）。

不存在的。在更科学的研究中，德国植物学家 Joseph Kölreuter (1766) 得到了具有两个物种特征的杂交烟草植物。

与此同时，后成说的胚胎学案例被沃尔夫 (Kaspar Friedrich Wolff) 复活。通过详细观察鸡胚胎的发育，沃尔夫证明了胚胎成分发育自一些在成体中没有对应物的组织。在每个胚胎中都能观察到心脏、肠和血管（按照先成说应该一开始就存在）是重新发育的。因此，沃尔夫 (1767) 描述，“当充分确定肠是以这种方式形成时，我相信后成说的真理就不再有任何疑问”。然而，为了解释一个生物如何在每一代都是重新创造的，沃尔夫不得不假设有一个未知的力量，即 *vis essentialis*（“必要力量”），这个力量将按照类似于重力或磁力的自然法则来组织胚胎的发育。

德国哲学家康德 (Immanuel Kant，1724—1804) 和他的同事、生物学家布卢门巴赫 (Johann Friedrich Blumenbach，1752—1840)，曾试图协调先成说与后成说之间的矛盾。布卢门巴赫假设存在一个机械性和意图性的指引力量，被他称为 *Bildungstrieb*（“发育力量”）。他认为这个力量不是理论性的，而是可以用实验来检验的。一个水螅被切割后能通过重新布置尚存的成分而再生出被截去的部分（在第 22 章描述）。这时可以观察到一些目的性的组织力量在运行，并被认为是继承自生殖细胞。因此，发育可以通过胚胎物质中固有的一个预定力量得以进行 (Cassirer 1950；Lenoir 1980)。在这个假说中，渐成式发育受预定的指令引导，这与现代生物学家持有的观点［认为多数（但绝对不是全部）形成生物体的指令早已存在于受精卵中］相差并不很远。

1.5 早期发育概述

1.5.1 卵裂图式

威尔逊（E. B. Wilson）是将细胞生物学应用于胚胎学的先驱者之一，他在 1923 年提到，“对于我们有限的智力，把一个细胞核等份分割看上去是一个简单的事情。但细胞却明显地持有一个非常不同的看法”。的确，不同生物以明显不同的方式进行卵裂，并且这些差异的机制一直处在细胞和发育生物学研究的前沿。处在卵裂时期的胚胎细胞称为**卵裂球**（**blastomere**）[5]。在多数物种中（哺乳动物是一个主要的例外），细胞分裂的初始速度及卵裂球之间的相互位置都受控于储存在卵母细胞中的蛋白质和 mRNA。直到后期，细胞分裂的速度和细胞的位置才受控于新生物体自身的基因组。在发育的初始阶段，当卵裂节奏受控于母体因子时，细胞质的体积并不增大。相反地，合子细胞质被分成越来越小的细胞，一开始分成 1/2，然后 1/4，再然后 1/8，等等。在多数无脊椎动物中，卵裂进行得非常迅速，可能是对迅速产生大量的细胞及恢复核体积相对于细胞质体积在体细胞中的比率做出的适应。胚胎经常跳跃使细胞生长的细胞周期间期（G_1 和 G_2 期）来完成快速卵裂，如一个蛙卵能在 43 h 内分裂成 37 000 个细胞。果蝇胚胎卵裂期的有丝分裂在 2 个多小时内每 10 min 发生一次，在 12 h 的时候能分裂成 50 000 个细胞。

物种特异的卵裂形式受两个主要因素的决定：①细胞质中卵黄蛋白的含量和分布，这将决定卵裂的位置和卵裂球的相对大小；②一些影响有丝分裂纺锤体角度和形成时间的卵细胞质因子。

一般来说，卵黄妨碍卵裂。当卵的一个极基本没有卵黄时，这个位置的细胞的分裂速度比相反的位置要快。富含卵黄的一极称为**植物极**（**vegetal pole**），而卵黄的浓度在**动物极**（**animal pole**）相对较低。合子的细胞核经常是靠近动物极。图 1.5 提供了卵裂类型的一个分类，显示了卵黄对卵裂对称性和卵裂形式的影响。一个极端的例子见于海胆、哺乳动物和蜗牛的卵。这些卵含有稀疏和均等分布的卵黄，因此是**均黄**（**isolecithal**，希腊语“相等卵黄”）卵。在这些物种中，卵裂是**完全卵裂**（**holoblastic**，希腊语“*holos*”，意为“完全的”），意思是卵裂沟延伸通过整个卵。因为只有小量的卵黄，这些胚胎必须用其他方式获得养分。多数胚胎将产生一个贪吃的幼体形式，而哺乳动物则通过母体胎盘来获取它们的营养。

另一个极端见于昆虫、鱼类、爬行类和鸟类的卵。这些细胞的大部分体积由卵黄组成。卵黄在整个胚胎发育过程中足以滋养这些动物。积累大量卵黄的合子进行**不完全卵裂**（**meroblastic cleavage**，希腊语“*meros*”，意为“部分”），只有一部分细胞质被分开。卵裂沟不穿过细胞质中多卵黄的部分，因为卵黄颗粒妨碍细胞膜在那里形成。昆虫卵的卵黄位于中央，也就是说它们是**中央卵黄**（**centrolecithal**）卵，并且细胞质的分裂仅发生在卵细胞的边缘，围绕在细胞的周边，即**表面卵裂**（**superficial cleavage**）。鸟类和鱼类的卵只有一个很小的区域不含卵黄，即**端黄**（**telolecithal**）卵，因此细胞分裂仅局限在这个小的细胞质盘上，产生**盘状卵裂**（**discoidal cleavage**）。这是一般的规则，然而，即便是近缘的物种也会在不同环境中演变出不同的卵裂形式。

卵黄只是影响一个物种卵裂形式的一个因素。像康克林（Conklin）的直觉告诉他的那样，细胞分裂的遗传图式也会受到卵黄限制的影响。这种遗传图式的重要性很容易在均黄卵中看到。在缺少大量卵黄的情况下发生**完全卵裂**（**holoblastic cleavage**）。这个类型的卵裂有四个主要的形式：辐射完全卵裂、螺旋完全卵裂、两侧完全卵裂、旋转完全卵裂。

---

[5] 在本书中我们将使用各种带有“blast”（“母细胞”）的词汇。一个卵裂球（blastomere）是来自早期胚胎卵裂所产生的一个细胞。囊胚（blastula）是由卵裂球组成的一个胚胎时期；哺乳动物的囊胚称为胚泡（blastocyst；见第 12 章）；囊胚内部的腔是囊胚腔（blastocoel）；缺少囊胚腔的囊胚是实囊胚（stereoblastula）；原肠胚形成起始位置的内陷是胚孔（blastopore）。

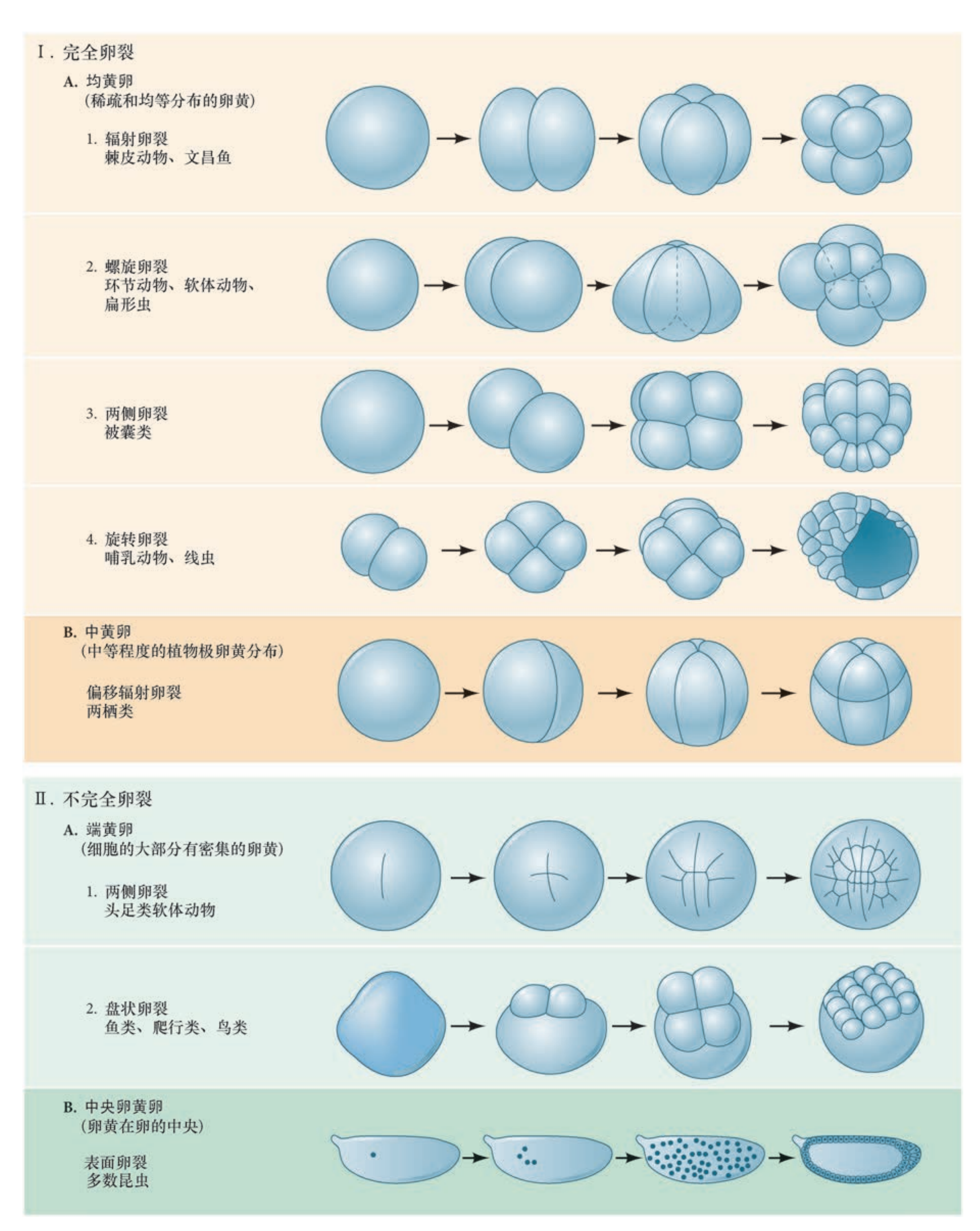


图 1.5　主要的卵裂形式简介。

网络话题 1.2　**胚胎卵裂的细胞生物学**　细胞分裂伴随着细胞骨架和染色体之间的高度协调。部分和整体的这种整合因为有了更好的成像技术正在被更深入地了解。

1.5.2　原肠胚形成：“你生命中最重要的时刻”

根据发育生物学家沃尔珀特（Lewis Wolpert）在 1986 年所述，“不是出生、结婚或死亡，而是原肠

胚形成，才真正是你生命中最重要的时刻”。这不是夸张。**原肠胚形成**（**gastrulation**）是动物的特征。只有动物才能形成原肠胚，而植物和真菌没有原肠胚形成。在原肠胚形成过程中，囊胚的细胞有了新的位置和新的邻居，建立了生物的多层躯体图式。形成内胚层和中胚层器官的细胞被带入胚胎内部，而形成皮肤和神经系统的细胞在胚胎的外部表面扩展。因此，三个胚层（最外面的外胚层、最内部的内胚层、间质性的中胚层）在原肠胚形成过程中首先产生。另外，在这个时期处于新位置的组织之间起始了相互作用。

原肠胚形成通常是几种类型运动的一些组合。这些运动涉及整个胚胎，在胚胎中一个位置的细胞迁移必须与同时发生的其他运动紧密协调。尽管原肠胚形成的形式在整个动物界有显著的差异，但所有的形式都是五种基本细胞运动类型的不同组合：**内陷**（**invagination**）、**内卷**（**involution**）、**内移**（**ingression**）、**分层**（**delamination**）和**外包**（**epiboly**），这些运动在表 1.1 中给予了描述。

表 1.1 原肠胚形成过程的细胞运动类型 [a]

运动类型	描述	图示	范例
内陷	一片（上皮）细胞的内折，很像一个软橡皮球被戳后缩进去		海胆内胚层
内卷	扩张的外层向内运动，然后在外部细胞的内表面上伸展		两栖类中胚层
内移	单个细胞从表面迁移到胚胎的内部，变成间充质（即相互分离）并独立迁移		海胆中胚层、果蝇成神经细胞
分层	一层细胞分成差不多平行的两个细胞层。虽然在细胞基础上与内移相似，但结果是形成了一个新的（另外的）上皮细胞层		鸟类和哺乳类动物下胚层的形成
外包	上皮层（通常是外胚层细胞）作为一个整体（而不是独立的细胞）进行伸展，把胚胎的深层细胞包裹起来。这能由细胞分裂、细胞形状改变，或几层细胞互相嵌插以减少细胞层而产生；通常三种机制都会被使用		海胆、被囊类和两栖类动物的外胚层形成

[a] 任何特定生物的原肠胚形成都是这些运动的部分组合。

除了确立哪些细胞将位于哪些胚层以外，胚胎还必须发育出作为躯体基础的三个关键轴：前 - 后轴、背 - 腹轴和左 - 右轴（图 1.6）。**前 - 后轴**（**AP** 或 **anteroposterior axis**）是从头向尾延伸的一条线（或在一些没有头和尾的动物中是从口到肛门的一条线）。**背 - 腹轴**（**DV** 或 **dorsoventral axis**）是从背部（背面）向腹部（胸腹面）延伸的一条线。**右 - 左轴**（**right-left axis**）分开身体的两个侧面。尽管人（举一个例子）看似对称，但要知道我们大多数人的心脏位于身体的左半部，而肝则位于右侧。胚胎以某种方式知道一些器官应该属于一侧，而另一些器官则前往另一侧。

1.5.3 胚胎各部分的命名：初级胚层和早期器官

先成说直到 19 世纪 20 年代才被人们遗忘。那时，新的染色技术、改进的显微镜，以及德国大学的

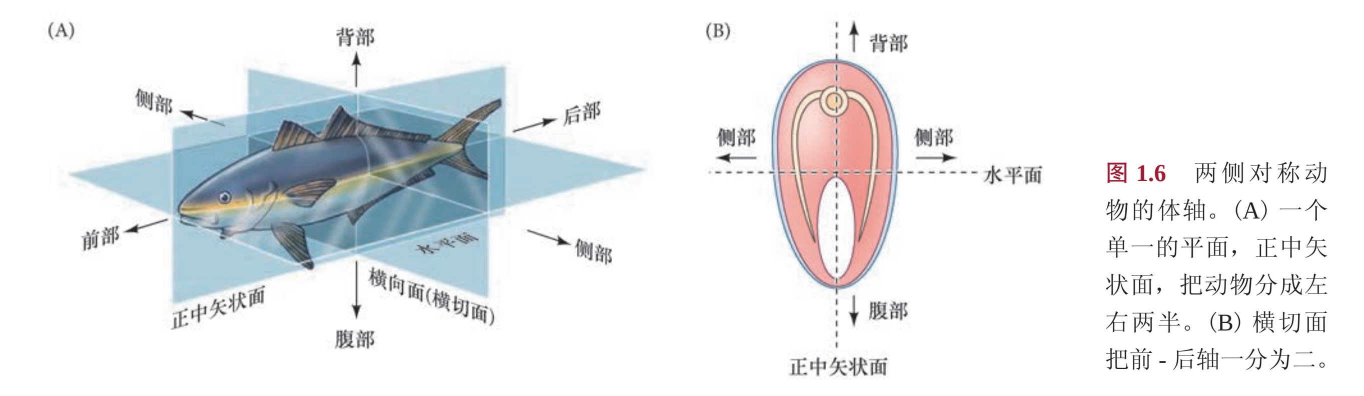


图 1.6　两侧对称动物的体轴。(A) 一个单一的平面，正中矢状面，把动物分成左右两半。(B) 横切面把前 - 后轴一分为二。

体制改革促进了描述胚胎学的革命。这些新的技术使显微镜使用者能为解剖结构的逐渐形成提供证据；体制的改革也为这些报道提供了读者，使学生能够继续从事他们老师的工作。在这些偏好显微镜的最杰出的新一代研究者中有三位朋友，他们同年出生，都来自波罗的海地区并且都在德国北部上学。因此，潘德尔 (Christian Pander)、拉司克 (Heinrich Rathke) 和冯 • 贝尔 (Karl Ernst von Baer) 将胚胎学转变成科学中的一个特定领域。

在研究鸡胚胎发育时，潘德尔发现整个胚胎被组织成**胚层** (**germ layer**)[6]，即胚胎的三个不同区域逐渐形成一些分化的细胞和特定的器官系统（图 1.7）。这三个胚层在大多数动物门的胚胎中都存在。

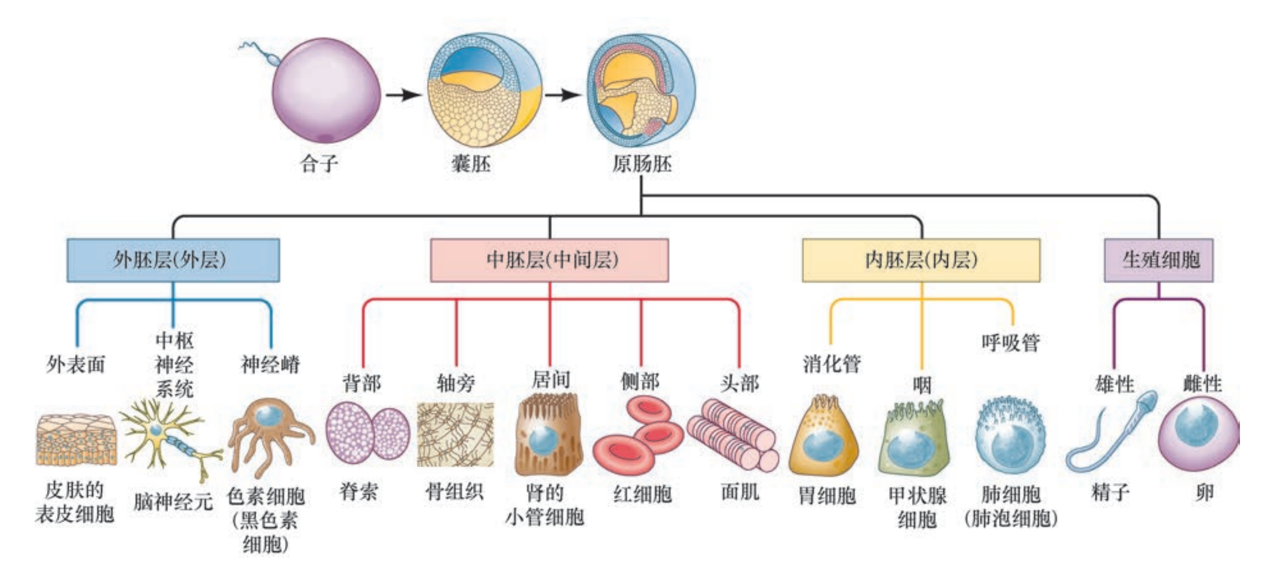


图 1.7　受精卵的分裂细胞形成胚胎的三个不同胚层。每个胚层都产生无数的分化细胞类型（这里只显示了少数有代表性的细胞类型）和不同的器官系统。生殖细胞（精子和卵子的前体）在早期发育中就被搁置起来，不源于任何一个特定胚层。

- 外胚层 (ectoderm) 形成胚胎的外层，产生皮肤的表层（表皮），并形成脑和神经系统。
- 内胚层 (endoderm) 变成胚胎的最内层，产生消化管上皮及相关的器官（也包括肺）。
- 中胚层 (mesoderm) 被夹在外胚层和内胚层之间，形成血液、心脏、肾、生殖腺、骨骼、肌肉和结缔组织。

潘德尔也证明，胚层不是自主地形成各自的器官 (Pander 1817)。相反地，一个胚层“还不够独立地显示出它真正是什么；它还需要其姊妹同行者的帮助，因此，虽然三个胚层早就被指向不同的目的地，

[6] 胚层 (germ layer) 来自与“germination”（“萌芽”）相同的词根，拉丁语中 *germen* 的意思是“发芽”或“萌芽”。三个胚层的命名来自希腊语：外胚层 (ectoderm) 来自 *ektos*（“在外面”），加上 *derma*（“皮肤”）；中胚层 (mesoderm) 来自 *mesos*（“在中间”）；内胚层 (endoderm) 来自 *endon*（“在里面”）。

但它们作为一个整体互相影响，直到每个胚层达到一个适当的水平”。潘德尔发现了我们现在称为诱导的组织之间的相互作用。没有一个脊椎动物的组织能独立地建造器官，它必须与其他组织相互作用。我们将在第 4 章予以描述。

与此同时，拉司克跟踪了脊椎动物的颅骨、排泄系统和呼吸系统的错综复杂的发育过程，发现它们变得越来越复杂。他还发现这个复杂性在不同的动物纲中具有不同的轨迹。例如，拉司克首次发现了**咽弓**（**pharyngeal arch**）（图 1.8）。他证明，在鱼中这些相同的胚胎组织结构变成鳃的支架，而在哺乳动物中变成颌和耳（当然也包括很多其他组织）。

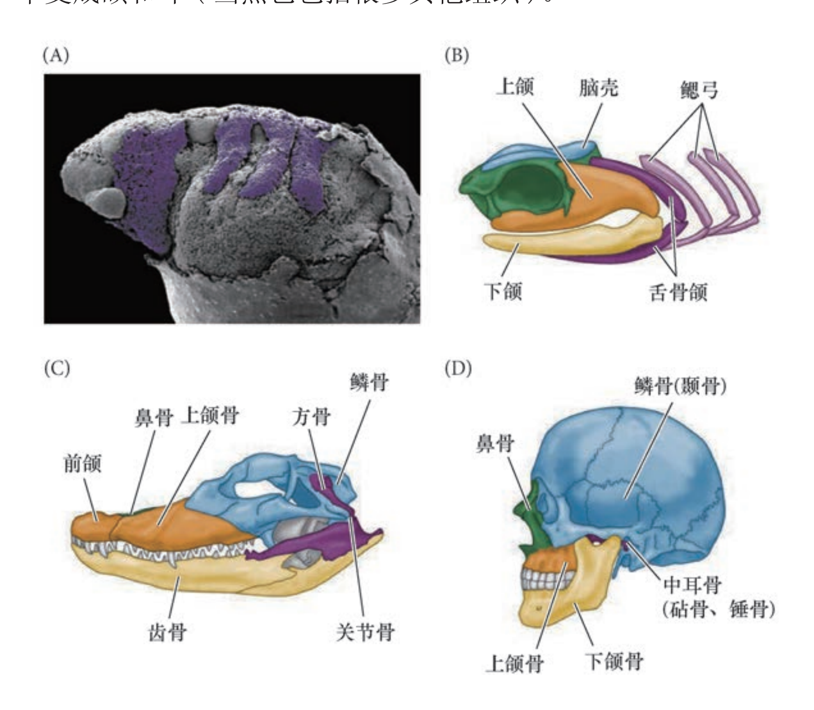


图 1.8 脊椎动物头部咽弓结构的演化。(A) 墨西哥蝾螈 (*Ambystoma mexicanum*) 胚胎的咽弓（也称为鳃弓）。为了能看到正在形成的咽弓（用颜色突出的部分），表面外胚层已被去除。(B) 在成体鱼，咽弓细胞形成舌骨颌和鳃弓。(C) 在两栖类、鸟类、爬行类（这里显示一个鳄鱼），同样的细胞形成上颌的方骨和下颌的关节骨。(D) 在哺乳动物，方骨内移形成中耳的砧骨。关节骨仍与方骨相接触，变成中耳的锤骨。因此，在鱼中形成鳃支架的细胞，在哺乳动物中形成中耳骨 (A 图由 P. Falck 和 L. Olsson 提供；B ～ D 图参考 Zangerl and Williams 1975)。

冯 • 贝尔拓展了潘德尔对鸡胚胎的研究。他认识到，所有脊椎动物的发育都具有共同的图式，不管这个物种是鱼、蛙或鸡，每个胚层通常产生同样的器官。他发现了脊索这个中胚层棒，把胚胎分成左、右两半，并能指示其上部的外胚层变成神经系统（图 1.9）。他还发现了哺乳动物的卵——一个人们长期寻找的极小细胞。所有人都相信这个细胞的存在，但在冯 • 贝尔之前没有人看到。

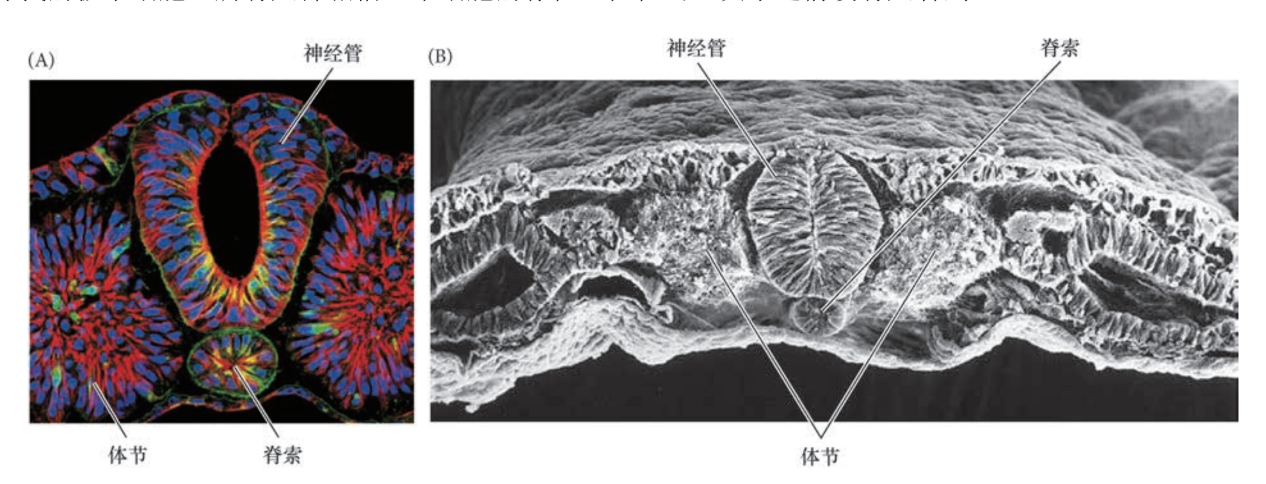


图 1.9 两种显微技术显示脊索和它对脊椎动物胚胎左右两部分的分隔（图中给出的是鸡胚胎）。脊索指令其上部的外胚层变成神经系统（在这个发育时期是神经管）。在脊索和神经管的两侧是称为体节的中胚层细胞团，将形成脊椎、肋骨和骨骼肌。(A) 不同染料染色的荧光图片，显示细胞核 DNA（蓝色）、细胞骨架微管（红色、黄色）和细胞外基质（绿色）。(B) 相同时期的扫描电子显微镜照片，突出这些结构的三维关系 (A 图由 M. Angeles Rabadán 和 E. Martí Gorostiza 提供；B 图由 K. Tosney 和 G. Schoenwolf 提供)。

冯·贝尔在 1828 年报道，“我在酒精里保存了两个小胚胎，但我忘了做标记。现在我已经不能确定它们是什么属的动物。它们可能是蜥蜴、小鸟，甚至是哺乳动物”。只要看一下这些早期胚胎的绘图我们就能理解他当时的为难境地（**图 1.10**）。通过对鸡胚胎发育的详细研究，以及对鸡胚胎与其他脊椎动物胚胎的比较，冯·贝尔得到四个概论，通常称为“冯·贝尔法则”，我们在这里将用一些脊椎动物的例子予以描述。

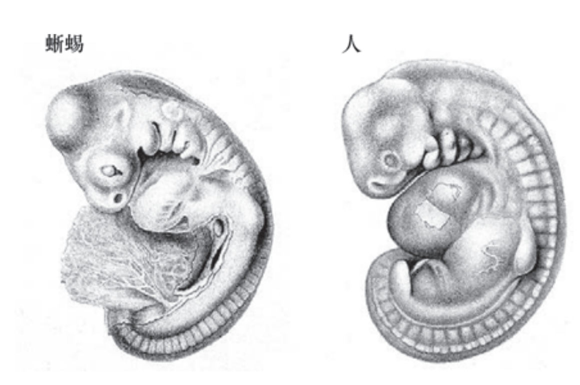


图 1.10　脊椎动物，包括鱼类、两栖类、爬行类、鸟类和哺乳类，由于它们卵的大小有巨大差异，在发育的初始时期也完全不同。但是，在神经胚形成开始时，所有脊椎动物胚胎都向共同的结构汇集。在这里，并排地显示了处在类似时期的一个蜥蜴胚胎和一个人胚胎。当它们发育到神经胚以后，不同脊椎动物纲的胚胎开始变得越来越不相像（来自 Keubel 1904，1908；见 Galis and Sinervo 2002）。

袖珍指南

复式显微镜是发育解剖学者的关键工具。对显微镜技术的掌握使得人们进入了各种形式和图式的全部世界。

1. 一个大的动物类群的共同特征比一个小的类群的专有特征在发育过程中更早地显示出来。尽管每个脊椎动物纲在发育的初始阶段以不同的方式进行卵裂和原肠胚形成，但当它们开始形成神经管时却向一个非常类似的结构汇集。所有发育中的脊椎动物在原肠胚形成后都显得非常相似。所有脊椎动物胚胎都有鳃弓、一个脊索、一个脊髓和原始肾。图 1.9 中显示的结构，即位于神经管下面且两侧有体节的脊索，存在于所有脊椎动物的胚胎。只是在发育的后期，一个纲、目和种的独特特征才依次呈现出来。
2. 一些不太普遍的特征发育自更为共同的特征，然后出现最专有的特征。所有脊椎动物开始都有相同类型的皮肤，直到后期才发育成鱼的鳞、爬行动物的鳞片、鸟的羽毛，或者毛发、爪及哺乳动物的指（趾）甲。同样，肢的早期发育在所有脊椎动物中也基本相同。直到后期，腿、翼和臂的区别才变得明显。
3. 一个特定物种的胚胎并不经历比其更低等动物的成体时期，而是离其越来越远[7]。例如，从图 1.8 中可以看到，咽弓最初在所有脊椎动物中都是一样的，但在鱼类变成颌支架的咽弓，却在爬行类变成颅骨的一部分、在哺乳动物变成中耳骨的一部分。哺乳动物并不经历类似于成体鱼的时期（Riechert 1837；Rieppel 2011）。
4. 高等动物的早期胚胎绝不会像一个低等动物，但会像其胚胎。哺乳动物胚胎不会经历等同于成体鱼或鸟的时期。相反地，人的胚胎最初与鱼类和鸟类的胚胎有很多共同特征。在发育后期，哺乳动物胚胎与其他动物胚胎开始产生差异，但没有一个物种的胚胎经历其他物种的成体时期。

新近的研究证实了冯·贝尔的观点，指出有一个“种系特征性发育阶段”，不同脊椎动物门的胚胎具有类似的胚体结构，如图 1.10 中显示的时期。在相同的时期，脊椎动物门中不同纲的胚胎所表达的基因具有最小差异（Irie and Kuratani 2011）[8]。

1.6　追踪运动细胞：命运图谱和细胞谱系

在 19 世纪后期，已有令人信服的实验证明细胞是所有解剖结构和生理机能的基本单位。胚胎学家也开始把细胞作为他们研究的基础。但是不同于研究成体生物的学者，发育解剖学者发现胚胎中的细胞并

[7] 冯·贝尔在达尔文的进化论之前提出了这些概论。“低等动物”指一些具有更简单解剖学结构的动物。
[8] 的确，对于门的一个定义是，在种系特征性发育阶段，一系列物种中的基因表达高度保守，而与其他物种相比具有差异。

不是原位不动的。的确，他们所得出的一些重要结论之一就是，胚胎细胞不是停留在一个位置，也不总是保持一个形状（Larsen and McLaughlin 1987）。

胚胎中主要有两种细胞类型：**上皮细胞**（**epithelial cell**）互相紧密地连成片状或管状结构；**间充质细胞**（**mesenchymal cell**）互不连接或互相疏散连接，能独立行使功能。在这两种类型的结构中，一些有限的细胞过程促使了形态发生。

- *细胞分裂的方向和次数*。试想一下两个犬种的面部，如一只德国牧羊犬和一只狮子狗，它们的面部都由相同的细胞类型构成，但细胞分裂的次数和方向却存在差异（Schoenebeck et al. 2012）。也可以比较一下德国牧羊犬和猎獾犬的腿。猎獾犬的短腿中形成骨骼的细胞比牧羊犬的长腿中同样的细胞所经历的分裂次数要少。
- *细胞形状的变化*。细胞形状变化是发育中一个极其重要的特征。上皮细胞的形状变化经常把片状层变成管道（如在神经管形成时），并且从上皮到间充质的形状改变在单个细胞从上皮层迁移出去时也至关重要（如在肌细胞形成时）。我们将在第 24 章描述，同样类型的上皮到间充质转换也发生在肿瘤中，这能使癌细胞迁移，从原始肿瘤扩散到新的位置。
- *细胞迁移*。细胞必须通过迁移以便找到它们的适当位置。生殖细胞必须迁移到发育的生殖腺，原始心脏细胞在脊椎动物的颈中部聚集，然后迁移到胸的左侧。
- *细胞生长*。细胞能改变其大小，这在生殖细胞中最为明显：精子丢失大部分细胞质而变得很小，而卵子保留且增添细胞质，变得相对巨大。很多细胞经历一次“不对称”的分裂，产生一个大细胞和一个小细胞，两个细胞会有不同的命运。
- *细胞死亡*。死亡是生命的重要部分。在我们趾间和指间形成蹼的那些胚胎细胞在出生前死亡。我们的尾也是一样。我们的口、肛门和生殖腺开口都是通过**细胞凋亡**（**apoptosis**）来形成的。细胞凋亡是一些细胞在特定的时间和位置上的程序性死亡。
- *细胞膜或分泌物成分的改变*。细胞膜及细胞的分泌产物影响邻近细胞的行为。例如，一组细胞分泌的细胞外基质能使与它们邻近的细胞迁移；其他细胞类型产生的细胞外基质将“禁止”同样类型细胞的迁移。这样的方式建立了迁移细胞的“路径和轨迹”。

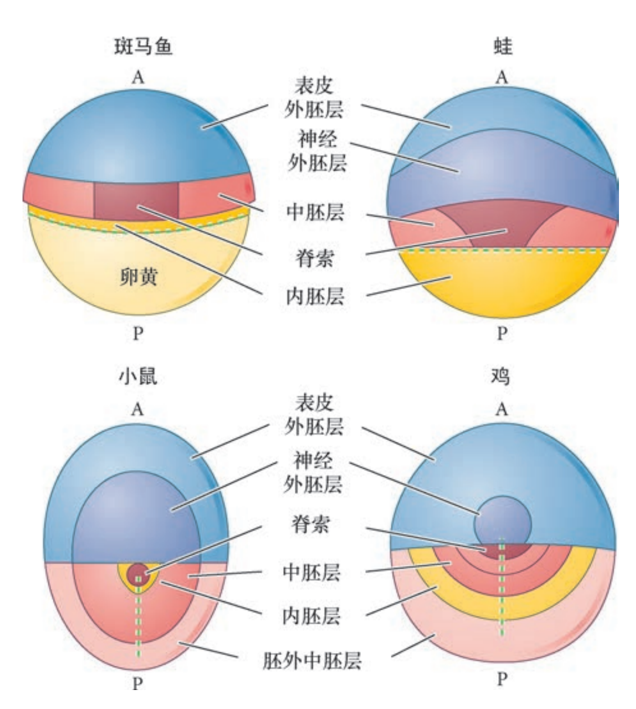


图 1.11　脊椎动物原肠胚早期命运图谱的背部表面观（从将要变成胚胎的背部向“下”看）。尽管成体动物的外观有很大差异，这四种脊椎动物胚胎之间的命运图谱却有众多的相似性。形成脊索的细胞占据背中央的位置，神经系统前体紧靠脊索的前部。神经外胚层周围是偏离背部的外胚层，将形成皮肤的表皮。A 指胚胎的前端，P 指胚胎的后端。绿色虚线指示内移的位置，也就是细胞从胚胎外部迁移到内部所经过的路径。

1.6.1　命运图谱

鉴于这样一个动态的情况，描述胚胎学中最重要的工作之一就变成了对**细胞谱系**（**cell lineage**）的追踪，也就是跟踪一些单个细胞以便观察它们都变成了什么。在很多生物中是不可能区分单个细胞的，但人们可以标记几组胚胎细胞，观察这些被标记的区域在成体中变成了什么。把这些研究结合到一起，人们就可以构建一个**命运图谱**（**fate map**）。这些简图把幼体或成体结构“绘制”到它们起源的胚胎区域。命运图谱是实验胚胎学的一个重要基础，为研究人员提供关于哪些胚胎部分形成哪些幼体或成体结构的信息。图 1.11 显示了一个脊椎动物胚胎在原肠胚早期的命运图谱。

命运图谱可以采取多种方式来完成，在过去的几年中，这方面的技术也发生了极大的变化。以分子染料来追踪细胞和使用计算机成像的能力已经改变了我们对一些细胞类型发生的了解。甚至我们对心脏细胞发生位置的认识也有了改变（Lane and Sheets 2006；Camp et al. 2012）。最为困难的是“绘制”哺乳动物胚胎的命运图谱（因为它们在另一个生物的体内发育），目前研究人员正在努力构建、细化、证明哺乳动物胚胎的命运图谱。

1.6.2　活体胚胎的直接观察

一些胚胎仅有少量细胞，在它们的早期卵裂球中细胞质有不同颜色的色素。在这种较理想的情况下，还是有可能通过显微镜观察将一个特定细胞的后代追踪到它们所形成的器官。康克林（E. G. Conklin）曾耐心地追踪了被囊动物海鞘（柄海鞘，*Styela partita*）中每个早期细胞的命运（**图 1.12**；Conklin 1905）。柄海鞘胚胎形成肌肉的细胞总是呈黄色，来自 8 细胞期一对特定卵裂球中的细胞质区域。如果去除这对卵裂球（根据康克林的命运图谱，它们将形成尾部肌肉组织），柄海鞘胚胎的确能产生没有尾部肌肉的幼体，因此证实了康克林的命运图谱（Reverberi and Minganti 1946）。

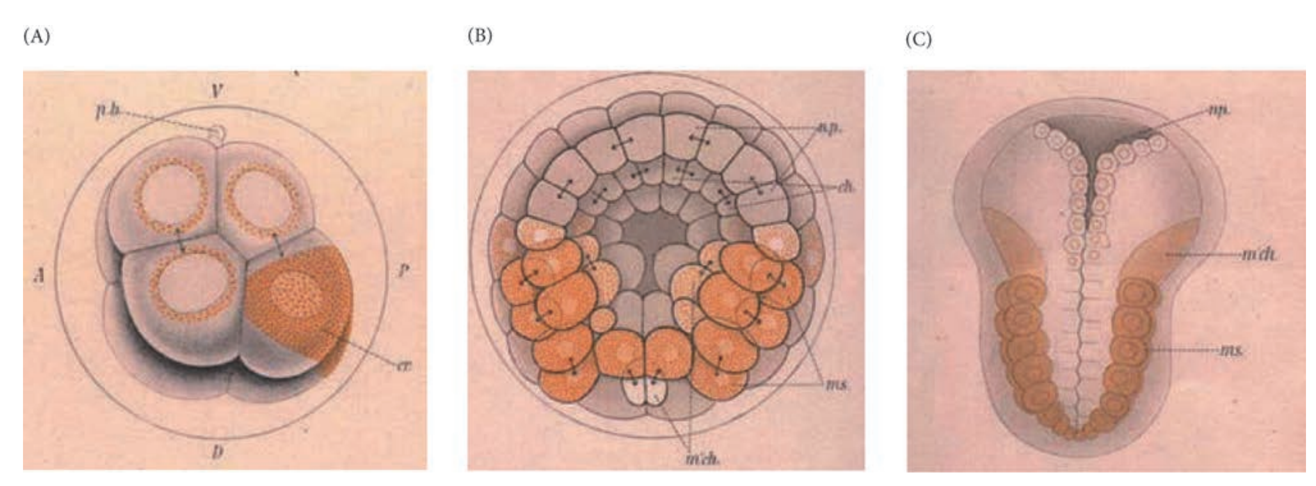


图 1.12　单个细胞的命运。利用被囊动物柄海鞘胚胎中很多细胞都具有不同细胞质颜色这一特征，康克林绘制了这个物种的胚胎的早期细胞命运图谱。黄色细胞质标记将要形成躯干肌肉组织的细胞。(A) 在 8 细胞期，有 2 个细胞含有黄色的细胞质。(B) 原肠胚早期，显示躯干肌肉组织前体中的黄色细胞质。(C) 早期幼体，显示新形成的肌肉组织中具有黄色细胞质（来自 Conklin 1905）。

网络话题 1.3　**康克林的艺术和科学**　康克林在 1905 年发表的重要论文的插图已经可在网上查看。看了这些图，你就能意识到他观察的准确性，以及他是怎样构建了被囊动物的命运图谱。

1.6.3　染料标记

大多数胚胎并不具有不同颜色的细胞，因此并非那么方便。在 20 世纪早期（1929），沃格特（Vogt）使用**活体染料**（**vital dye**）标记并追踪了两栖类卵中不同区域的命运。活体染料能使细胞着色但不杀死细胞。沃格特把这种染料与琼脂混合，然后把琼脂铺在显微镜载玻片上使其干燥。这样，被染色的琼脂就变得非常薄。他将琼脂切成小片放在蛙胚胎上。在染料使细胞着色之后，沃格特把小琼脂片取走，然后追踪那些着色细胞在胚胎内的运动（**图 1.13**）。

活体染料的一个问题是它们在细胞分裂过程中会被稀释，因此会变得很难检测。一个解决方法是使用**荧光染料**（**fluorescent dye**）。这些染料的荧光亮度非常强，被注射到单个细胞时，在多次分裂的后代细胞中仍能检测到。例如，荧光素标记的葡聚糖可以被注射到早期胚胎的单个细胞中，然后在紫外光下检测胚胎就可以看到这个细胞的后代（**图 1.14**）。

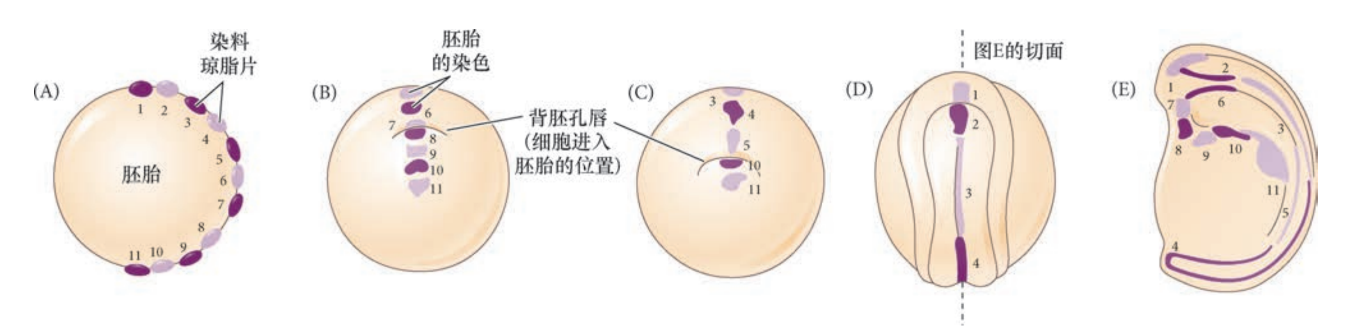


图 1.13 使用活体染料染色两栖类胚胎。(A) 沃格特用活体染料标记胚胎表面特定细胞的方法。(B ~ D) 几个后期胚胎的背部观。(E) 正中矢状面切开的蝾螈胚胎，显示前部被标记的细胞（参考 Vogt 1929）。

袖珍指南

必须是多数细胞被染色，以便能观察到它们；不同的染料使不同类型的分子着色。组织学技术的一个章节中提供了细胞染色的指南以便观察特定的结构（如细胞核）。

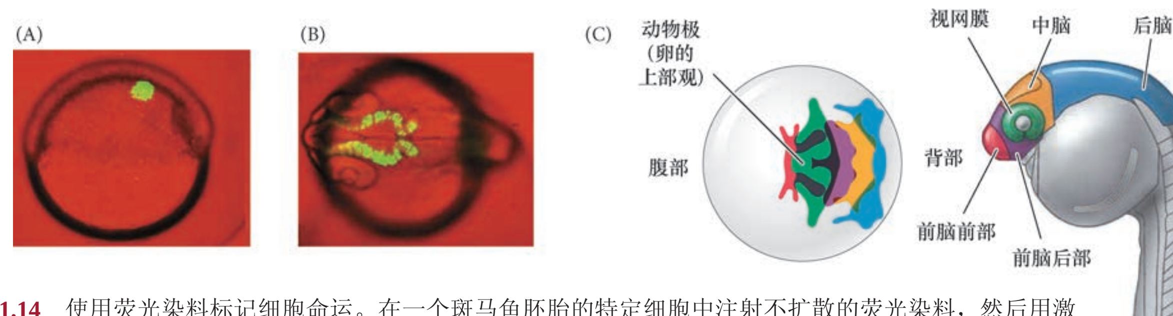
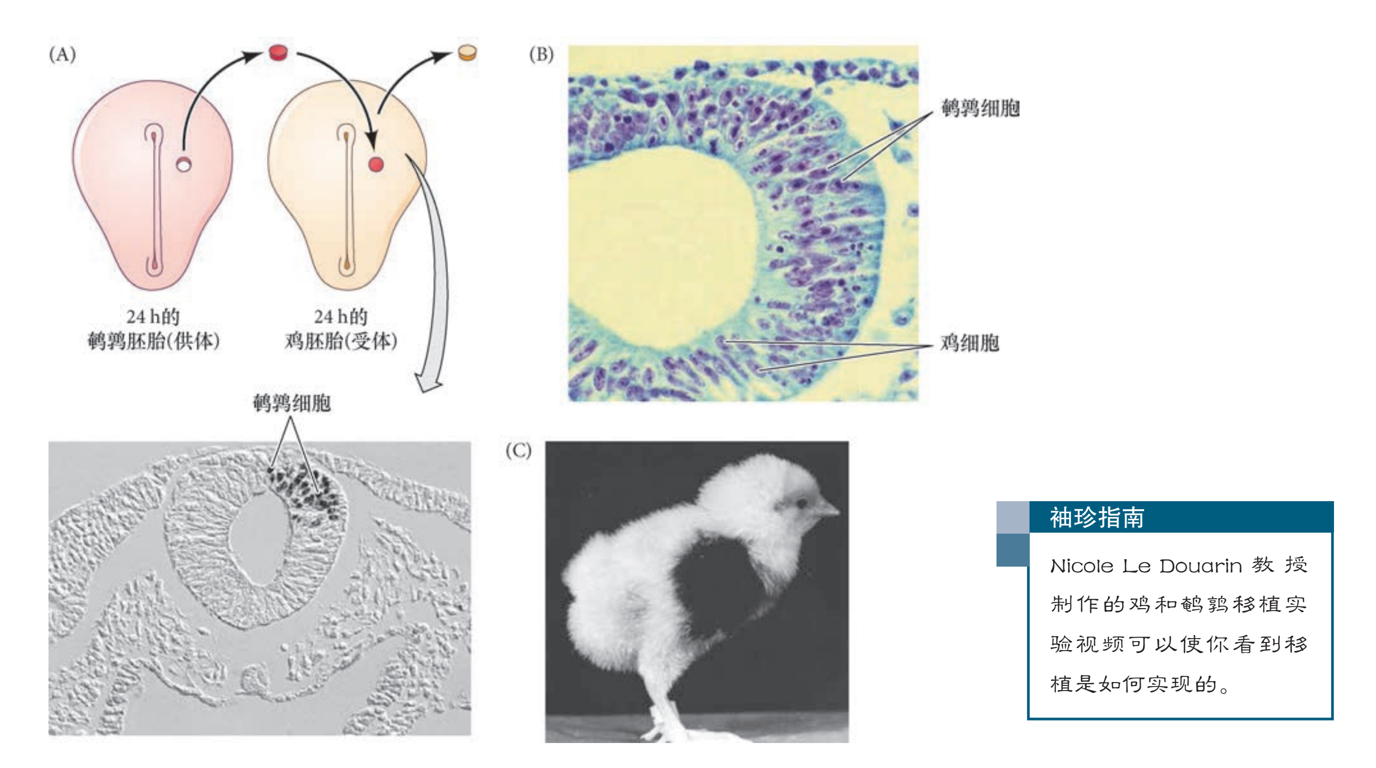


图 1.14 使用荧光染料标记细胞命运。在一个斑马鱼胚胎的特定细胞中注射不扩散的荧光染料，然后用激光在卵裂后期胚胎的一个小的区域（大约 5 个细胞）激活这个染料。(B) 在中枢神经系统形成开始后，可以在荧光显微镜下观察到表达活化染料的细胞。在产生前脑和中脑的特定细胞中能看到荧光染料。(C) 斑马鱼中枢神经系统的命运图谱。在受精后 6 h 的胚胎细胞中注射荧光染料（左图），将观察结果用颜色码标注到孵化的鱼胚胎（右图）。重叠颜色显示在 6 h 胚胎中被标记区域的细胞参与两个或更多区域的形成 (A 图和 B 图来自 Kozlowski et al. 1998，由 E. Weinberg 提供；C 图参考 Woo and Fraser 1995)。

1.6.4 遗传标记

一个永久性标记细胞和追踪它们的命运的方式是在同一胚胎中产生具有不同遗传背景的细胞。在这项技术中一个最好的例子是构建**嵌合体胚胎 (chimeric embryo)**，也就是用多于一种遗传背景的组织所制备的胚胎。例如，鸡和鹌鹑嵌合体的制备是将鹌鹑胚胎的细胞移植到鸡胚胎内部。鸡和鹌鹑胚胎的发育方式很相似（尤其是在早期），移植的鹌鹑细胞整合到鸡胚胎中并参与形成各种器官（图 1.15A）。鸡孵化出来后在特定的位置上含有鹌鹑的细胞，取决于鹌鹑移植体被植入鸡胚胎时的初始位置。鹌鹑细胞与鸡细胞在很多方面有明显的差异，其中包括形成免疫系统的一些物种特异性蛋白。有一些鹌鹑特异的蛋白质可以被用来鉴别单个鹌鹑细胞，即便是它们“隐藏”在众多的鸡细胞中间（图 1.15B）。通过观察这些细胞迁移的位置，就可以制作鸡的脑和骨骼系统的精细命运图谱 (Le Douarin 1969；Le Douarin and Teillet 1973)。

嵌合体明确地证实了脊椎动物发育过程中神经嵴细胞的大范围运动。Mary Rawles (1940) 证明，鸡胚胎的色素细胞（黑色素细胞）来源于**神经嵴 (neural crest)**，这是一个连接神经管和表皮的过渡性细胞带。当她将来自色素品系的鸡胚胎神经嵴组织小块植入无色素品系的鸡胚胎的相同位置时，迁移的色素细胞进入表皮，然后进入羽毛（图 1.15C）。Ris (1941) 使用类似的技术证明，尽管鸡胚胎中几乎所有的外部色素细胞都源于迁移的神经嵴细胞，视网膜色素细胞由视网膜自身形成，不依赖于迁移的神经嵴细胞。这种图式在鸡和鹌鹑嵌合体中得以验证，的确，鹌鹑的神经嵴细胞在鸡的羽毛中产生它们自身的色素和图式。



袖珍指南

Nicole Le Douarin 教授制作的鸡和鹌鹑移植实验视频可以使你看到移植是如何实现的。

图 1.15　遗传标记物作为细胞谱系的示踪物。(A) 将发育 1 天的鹌鹑胚胎的一个特定区域移植到一个 1 天的鸡胚胎的类似区域。几天之后，使用鹌鹑特异蛋白的抗体检测鹌鹑细胞（下方照片）。这个区域产生了神经管细胞。(B) 鸡和鹌鹑的细胞也可以通过它们细胞核中的异染色质予以区分。鹌鹑细胞具有一个大的细胞核（浓紫色），使它们有别于鸡细胞松散的细胞核。(C) 将来自色素品系的鸡胚胎的躯干神经嵴区域植入无色素品系的鸡胚胎的相同位置后得到的小鸡。产生色素的细胞迁移到翅膀的表皮和羽毛 (A 图和 B 图来自 Darnell 和 Schoenwolf 1997，由作者提供；C 图来自 B. H. Willier 的档案文件)。

1.6.5　转基因嵌合体

在多数动物中很难用两个物种来制备嵌合体。克服这个困难的方法之一就是移植被遗传修饰的生物体中的细胞。使用这个技术可以追踪表达遗传修饰的细胞。一种方式就是通过改造病毒基因使其表达**绿色荧光蛋白** (**green fluorescent protein，GFP**)[9]，然后用病毒转染胚胎中的一些细胞。以这种方式改造的基因称为**转基因** (**transgene**)，因为它含有来自其他物种的 DNA。当转染病毒的细胞被移植到一个野生型宿主时，只有供体细胞会表达绿色荧光蛋白；这些细胞会发出可见的绿色荧光（见 Affolter 2016；Papaioannou 2016)。转基因标记的变化能为我们提供一个极其准确的发育命运图谱。

例如，Freem 及其同事 (2012) 使用转基因技术研究神经嵴细胞向鸡胚胎消化管的迁移，在消化管中这些神经嵴细胞形成了协调肠蠕动的神经元，而肠蠕动是肠肌肉的收缩，对清除固体废物是必要的。绿色荧光蛋白标记的鸡胚胎亲本是被转染了携带绿色荧光蛋白活性基因的复制缺陷病毒。鸡胚胎继承了这个病毒，并且表达在每个细胞中。以这种方式，Freem 及其同事制备了放在紫外光下每个细胞都发绿光的胚胎（图 1.16A)。他们又将携带绿色荧光蛋白的转基因胚胎的神经管和神经嵴移植到一个正常胚胎的类似位置（图 1.16B)。1 天以后，他们能看到绿色荧光蛋白标记的细胞迁移到胃的区域（图 1.16C)；在第 7 天时，整个消化道都显示出绿色荧光蛋白的染色，直到后肠的前部（图 1.16D)。

---

[9] 绿色荧光蛋白自然存在于水母中，当暴露在紫外光下时会发出明亮的绿色荧光，被广泛应用于转基因标记。在本书中将会看到很多有绿色荧光蛋白标记的照片。

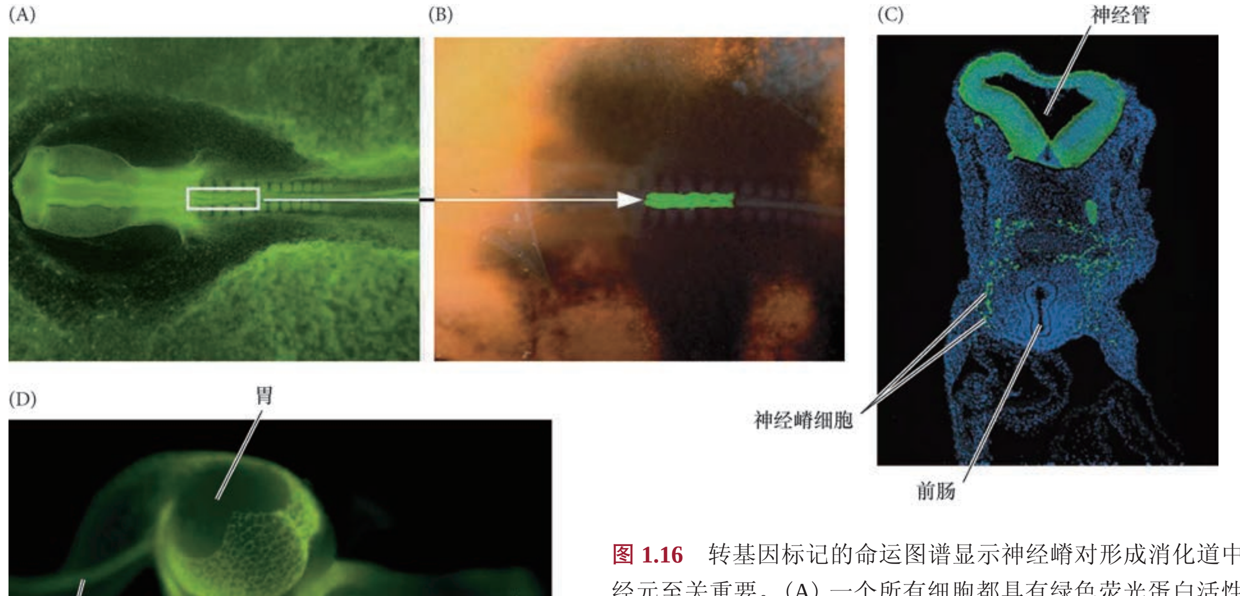


图 1.16 转基因标记的命运图谱显示神经嵴对形成消化道中的神经元至关重要。(A) 一个所有细胞都具有绿色荧光蛋白活性基因并表达绿色荧光蛋白的鸡胚胎。脑正在形成，位于胚胎的左侧，前脑的凸出（将变成视网膜）正在与头部外胚层相接触以起始眼的形成。(B) 预定颈部的神经管和神经嵴区域 (A 中的矩形) 被切割下来后移植到一个未标记的野生型胚胎的类似位置。我们可以通过绿色荧光看到移植物。(C) 1 天以后，神经嵴从神经管迁移到胃部。(D) 又过了 4 天，神经嵴已经在消化管中扩展，从食道延伸至后肠的前端（来自 Freem et al. 2012；由 A. Burns 提供）。

1.7 演化胚胎学

达尔文的进化论重新建立了比较胚胎学，也为它提出了一个新的关注点。1842 年，在阅读完约翰内斯・苗勒 (Johannes Müller) 关于冯・贝尔法则的概要后，达尔文感到胚胎的相似之处是不同动物种群之间遗传连通性的一个强有力证据。他在 1859 年的《物种起源》中得出结论："胚胎结构的共性揭示血统的共性"。达尔文对冯・贝尔法则用进化论的思想给予了解释，建立了一个被遵循数十年的模式，也就是说，动物种群之间的关系可以通过寻找共有的胚胎或幼体形态来建立。

在达尔文之前，幼体形态就被用于分类学的归类。例如，19 世纪 30 年代，汤姆森 (J. V. Thompson) 证明幼体藤壶与幼体小虾几乎完全一样，因此，他（正确地）把藤壶归类为节肢动物而不是软体动物（图 1.17；Winsor 1969）。达尔文也是甲壳动物分类的专家，他赞扬了这一发现："即使是著名的居维叶 (Georges Cuvier) 也没有觉察到藤壶是一种甲壳纲动物，但瞄一眼这个幼体就会一点不错地看出它的确就是"。科瓦列夫斯基 (Alexander Kowalevsky) 在 1871 年也有类似的发现，他观察到被囊动物幼体具有一个脊索和一些咽囊，这些结构与鱼类和鸟类中的相同结构都源于同样的胚层。因此，科瓦列夫斯基推测无脊椎被囊动物与脊椎动物密切相关，动物界中无脊椎动物和脊椎动物这两大范畴也由此通过幼体结构被统一起来（见第 10 章）。就像他支持汤姆森一样，达尔文同样称赞了科瓦列夫斯基的发现，他在 1874 年发表的《人类的由来》中写到："如果我们可以信赖胚胎学这个分类学中永远最保险的指南，看来我们就能最终获得脊椎动物门从何而来的一个线索"。达尔文进一步注意到，胚胎有时会形成一些与成体形态不符的结构，但他证明了这些结构与其他动物的相关性。他指出，鼹鼠胚胎中有眼，蛇胚胎中有骨盆骨原基，须鲸胚胎中有牙齿。

(A) 藤壶





(B) 虾





图 1.17　幼体期显示两种甲壳纲节肢动物有共同的祖先。(A) 藤壶。(B) 虾。藤壶和虾都表现出独特的幼体期（无节幼体），印证了它们是具有共同祖先的甲壳纲节肢动物，尽管曾被归类为软体动物的成体藤壶是固着的，在体型和生活方式上与自由游动的虾也有区别 (A 图为 Wim van Egmond/Visuals Unlimited 和 Barrie Watts/OSF/Getty 版权所有；B 图由美国国家海洋和大气管理局提供，并为 Kim Taylor/Naturepl.com 版权所有)。

达尔文还认为，偏离了“种类”和使一个生物在特定环境中生存的变化出现在胚胎后期[10]。他注意到，就像冯 • 贝尔法则预测的那样，同属内物种之间的差异随着发育的继续也变得更加明显。因此，达尔文认为可以从两个方面去看待“渐变演替”。人们可以从两种或多种动物种群之间胚胎的相似性这个角度来强调它们有“共同血统”，也可以从另一个角度去强调“暂变”，说明发育的变化产生了使动物能适应特定环境的结构。

1.7.1　胚胎同源性

演化胚胎学者给出的最重要区分之一就是同功和同源之间的区别。这两个术语指的都是相像的结构。**同源的** (**homologous**) 结构是指一些器官的潜在类似性产生于共同的祖先结构。例如，鸟的翼和人的臂是同源的，两个结构都来自一个共同祖先的前肢骨骼。而且，它们的各个部分也是同源的（**图 1.18**）。

同功的 (**analogous**) 结构是指一些器官的相似性在于它们行使类似的功能，而不是来自共同的祖先。例如，蝴蝶的翼和鸟的翼是同功的，它们都具有相同的功能（因此都被称为翼），但是鸟的翼和昆虫的翼（翅）并非产生于一个在进化过程中演变成鸟翼和蝴蝶翼的共同祖先结构。同源性必须始终涉及被比较的组织化层次。例如，鸟翼和蝙蝠翼与前肢是同源的，但这两种翼之间却并非同源。换句话说，它们共有一个前肢骨骼的潜在结构，因为鸟类和哺乳类动物共享具有这种骨骼的共同祖先。但是，蝙蝠起源于无翼的哺乳动物，而鸟翼独立进化自祖先爬行动物的前肢。我们将会看到，一个蝙蝠翼的结构与一个鸟翼的结构有极显著的差别。

我们将会在第 26 章看到，进化上的变异是基于发育的变异。例如，蝙蝠翼的出现在某种程度上是因为：①形成指部的软骨保持了一个快速的生长速度；②指间蹼应该发生的细胞死亡受到阻止。如**图 1.19** 所示，在小鼠的发育早期，它们的趾间是有蹼的（人和多数其他哺乳动物也是如此）。这个蹼对产生指之间的解剖差异是很重要的。一旦蹼完成了这个功能，遗传信号就使其细胞死亡，留下来能抓和操作的自由手指。

---

[10] 如魏斯曼 (August Weissman) 在 1875 年提出的那样，幼体必须有自身的适应能力。成体的总督蝶酷似君主斑蝶，但总督蝶幼虫却不像美丽的君主斑蝶幼虫。相反，总督蝶幼虫酷似鸟粪而不被察觉 (Begon et al. 1986)。

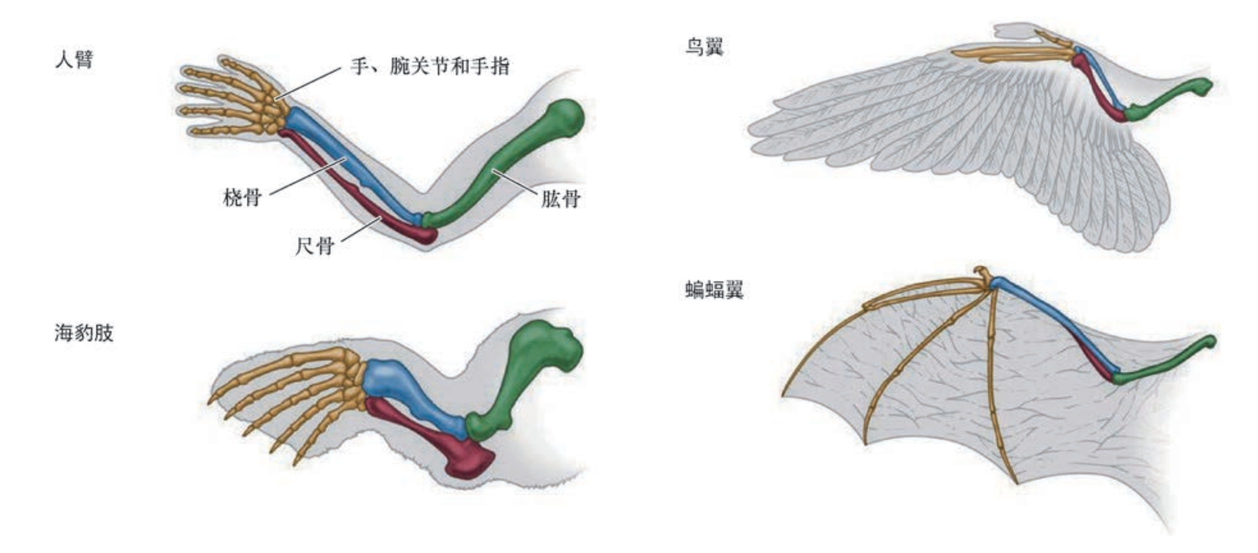
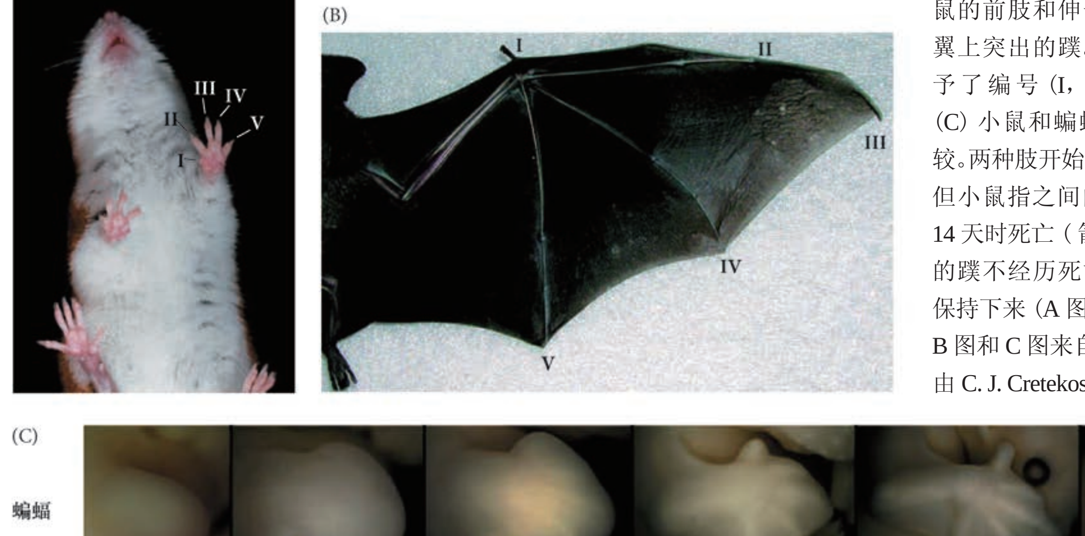


图 1.18 人臂、海豹前肢、鸟翼和蝙蝠翼在结构上的同源性；同源性支持结构以相同的颜色显示。这四种结构都源于共同的四足动物祖先，因此与前肢是同源的。但是，鸟和蝙蝠的前肢对飞行的适应却是互相独立进化的，远在这两个谱系从它们的共同祖先分离之后。所以，作为翼，它们不是同源的，而是同功的。



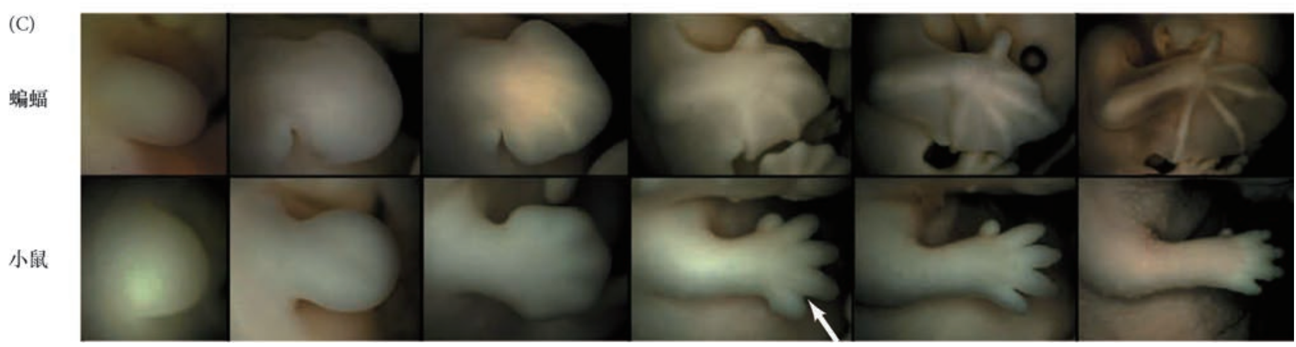


图 1.19 蝙蝠和小鼠前肢的发育。(A，B) 小鼠和蝙蝠躯体，显示小鼠的前肢和伸长的指部，以及蝙蝠翼上突出的蹼。两种动物的指都给予了编号 (I，拇指；V，小指)。(C) 小鼠和蝙蝠前肢形态发生的比较。两种肢开始时都是有蹼的附属器，但小鼠指之间的蹼在胚胎发育到第 14 天时死亡（箭头所示）。蝙蝠前肢的蹼不经历死亡，并且在指生长时保持下来 (A 图由 D. McIntyre 提供；B 图和 C 图来自 Cretekos et al. 2008，由 C. J. Cretekos 提供)。

但是，蝙蝠用它们的指来飞行，这是通过改变在蹼中有活性的一些基因而获得的本领。在蝙蝠胚胎的蹼中被激活的一些基因编码阻止细胞死亡的蛋白质，以及一些加速指延伸的蛋白质 (Cretekos et al. 2005；Sears et al. 2006；Weatherbee et al. 2006)。因此，同源的解剖结构可以通过改变发育而分化出来，并且这样的发育变化能为进化上的改变提供一些所需的变异。

达尔文在鸽子和犬种中观察了人工选择，这些例子依然是研究选择性变异的有价值资源。例如，一

些猎獾犬（dachshund）的短腿被饲养者选择出来以便用这种狗在地洞里猎取獾（德语 *Dachs*，“獾”加上 *Hund*，“狗”）。造成猎獾犬短腿的突变是多了一个拷贝的成纤维细胞生长因子 -4 的基因（*Fgf4*），它编码一个蛋白质，能通知软骨前体细胞停止分裂并开始分化。多了一个拷贝的 *Fgf4* 基因后，猎獾犬软骨细胞的分裂就比多数其他狗停止得早，因此腿就停止生长（Parker et al. 2009）。同样，长毛猎獾犬因为 *Fgf5* 基因的突变而不同于它们的短毛近亲（Cadieu et al. 2009）。这个基因参与毛的发生，能使每个毛囊产生更长的毛干（Ota et al. 2002；见第 16 章）。所以，控制发育过程的基因突变能产生可选择的变异。

1.8　医学胚胎学和畸形学

虽然胚胎学者能通过观察胚胎来描述生命的进化，以及各种动物如何形成它们的器官，但医生对胚胎的兴趣有更现实的原因。有 2% ～ 5% 的婴儿在出生时携带可见的解剖学畸形（Winter 1996；Thorogood 1997）。这些畸形包括肢的缺失、指的缺失或增多、腭裂、眼缺失某些部分、心脏缺少瓣膜等。一些出生缺陷是由突变的基因或染色体所导致，另一些是由干扰发育的环境因素所导致。对出生缺陷的研究能告诉我们人体是如何正常形成的。在缺少人类胚胎实验数据的情况下，自然发生的一些“实验”有时能为人体如何变得有组织化这个问题提供重要的新认知。

1.8.1　遗传畸形与综合征

由遗传事件（基因突变、染色体非整倍性和异位）导致的异常称为**畸形**（**malformation**），一个**综合征**（**syndrome**）是两种或多种畸形同时出现的一种状态。例如，有一个称为心手综合征的遗传病是以常染色体显性遗传的方式传递到后代。患有这种综合征的新生儿通常有畸形的心脏（将心脏分割成左、右两部分的隔膜不能正常生长；见第 18 章），以及腕关节和拇指的缺失。心手综合征是因为 *TBX5* 基因的突变而引起的（Li et al. 1997；Basson et al. 1997）。TBX5 蛋白表达在发育的心脏和手，对这两个位置的正常生长和分化有重要作用。

1.8.2　干扰和致畸因子

由外界因素（一些化学物质和病毒、辐射或高温）引起的发育异常称为**干扰**（**disruption**）。产生干扰作用的因素称为**致畸因子**（**teratogen**，来自希腊语，“怪物创造者”），对环境因素如何干扰正常发育的研究称为畸形学。能引起出生缺陷的因素包括一些比较常见的物质，如酒精和视黄酸（经常用于治疗痤疮），以及许多用于制造业并释放到环境中的化学物质。重金属（如汞、铅、硒）能干扰脑的发育。

致畸因子在 20 世纪 60 年代早期就引起了公众的重视。在 1961 年，Lenz 和 McBride 分别有证据证明，很多孕妇服用的中效镇静药沙利度胺（Thalidomide）能极大地增加原本是很罕见的先天缺陷率。最突出的缺陷是海豹肢畸形，这是一种肢的长骨短少或缺失的状态（**图 1.20A**）。有 7000 多个受到影响的婴儿是因为孕妇服用了沙利度胺，并且孕妇只需服用一片沙利度胺就能使新生儿的四肢都出现畸形（Lenz 1962，1966；Toms 1962）。因服用这个药而引发的其他异常包括心脏缺陷、外耳和肠畸形。Nowack（1965）证明了沙利度胺导致这些异常的敏感期（**图 1.20B**）。这个药只在最后一次月经后的第 34 ～ 50 天内有致畸作用（也就是在受精后的第 20 ～ 36 天内）。从第 34 ～ 38 天，服用这个药不会引起肢的缺陷，但会引起耳部组织的缺失或缺陷。上肢的畸形出现在下肢之前，因为臂比腿形成的稍微早一些。我们将在第 24 章更多地讨论上述及其他致畸因子。

先天畸形的解剖学信息与我们对发育调节基因的新认识的整合使医学领域不断重组。这些整合的信息正在使我们发现导致先天畸形的基因，并准确地鉴定哪些发育阶段受到了特定致畸因子的干扰。我们将会在整本书中看到这些信息整合的范例。

(A)

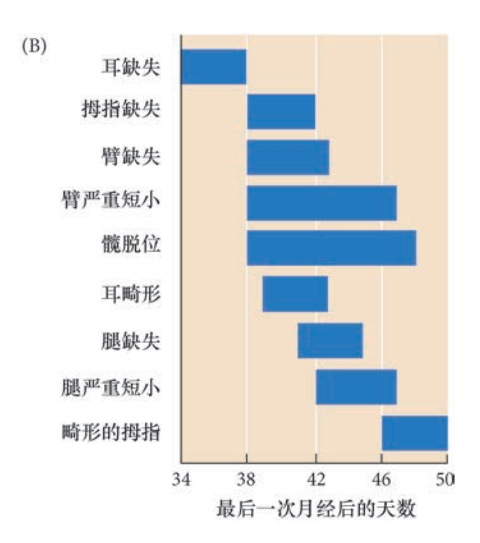
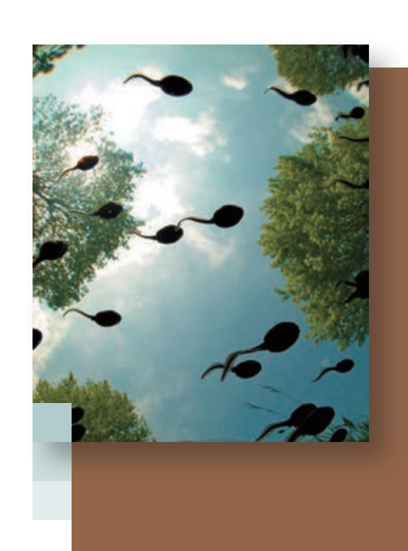

(B)


图 1.20 一个环境因素导致的发育异常。(A) 导致肢发育异常的海豹肢畸形是很多 20 世纪 60 年代早期出生的儿童中最明显的先天缺陷，这些儿童的母亲都是在孕期服用了镇静剂沙利度胺。现在这些儿童已经是中年的成人；这个照片是获得格莱美奖 (Grammy) 提名的德国歌手托马斯 • 夸斯托夫 (Thomas Quasthoff)。(B) 沙利度胺在人发育的不同时期干扰不同的结构 (A 图为 dpa picture alliance archive/Alamy Stock Photo 版权所有；B 图参考 Nowack 1965)。



开篇图的思考

对于很多动物种类，幼体是正常发育的关键部分。幼体（如蝌蚪）经常是一个生物采集食物和散布的时期。它们也经常与成体有不同的栖息地。蛙基因组中有两套基因，一套基因是为幼体准备的，而另一套是为成体准备的；我们将在第 21 章描述，哪一套基因开始表达受到一系列激素的调节。变态意味着去掉一些器官、形成一些新的器官、使其他器官行使新功能。一只蝌蚪在变为成体时仍保持着三个相同的体轴。但是，视网膜的色素、血液中的血红蛋白、尿素循环（或鸟氨酸循环）酶及皮肤都从水生动物的形式转变为具有陆地动物特征的形式。它的眼改变了位置，它的消化系统从一个食草动物的形式转换成食肉动物的形式（照片由 Bert Willaert 提供，为 Nature Picture Library/Alamy Stock Photo 版权所有）。



1 要点总结

新个体的形成

1. 生命周期可以看成是生物学的核心；成体形态必须是至高无上的。最基本的动物生命周期包括受精、卵裂、原肠胚形成、胚层形成、器官发生、变态、成年和衰老。
2. 在配子发生中，生殖细胞（也就是将要变成精子和卵子的那些细胞）经历减数分裂。成熟的配子被释放出来，在受精过程中合并，由此产生的新一代便开始发育。
3. 后成说出现。生物体的每一代都产生自相对无序的卵细胞质。
4. 先成说并非存在于解剖结构本身，但存在于引导这些解剖结构形成的遗传指令之中。受精卵的遗传继承包含该生物的遗传潜能。这些预先形成的细胞核指令包括一些以特定方式应答环境刺激的能力。

5. 三个胚层产生特定的器官系统。外胚层产生表皮、神经系统和色素细胞；中胚层形成肾、生殖腺、肌肉、骨骼、心脏和血液细胞；内胚层形成消化管的内壁和呼吸系统。
6. 冯・贝尔法则强调，一个大的动物种群的普遍特征比一个更小的动物种群的专有特征更早地出现在胚胎中。随着一个特定物种的胚胎不断发育，它开始偏离其他物种的成体形态。所以，“高等”动物的早期胚胎并不像一个“低等”动物的成体。
7. 用染料标记细胞显示，一些细胞在它们形成的位置分化，而其他细胞从它们最初的位置迁移出去，在新的位置分化。迁移的细胞包括神经嵴细胞，以及生殖细胞和血细胞的前体。
8. “胚胎结构的共性揭示血统的共性”（查理・达尔文《物种起源》）。
9. 不同物种的同源结构是指这些器官的相似性来自它们共享的一个共同祖先结构。同功结构是指这些器官的相似性来自它们行使类似的功能（但不是来自一个共同祖先结构）。
10. 先天异常能被遗传因素（突变、非整倍性、异位）或环境因素（一些化学物质、一些病毒、辐射）所引发。
11. 致畸因子是可以改变发育的环境化合物，在特定的时间作用于一些正在形成的器官。当细胞之间的信息传递被阻断或被排除后也会产生类似的遗传畸形。一个分子信号和它在应答细胞上的受体都起关键作用。

拓展阅读

Affolter, M. 2016. Seeing is believing, or how GFP changed my approach to science. *Curr. Top. Dev. Biol.* 116: 1–16.

Cadieu, E. and 19 others. 2009. Coat variation in the domestic dog is governed by variants in three genes. *Science* 326: 150–153.

Larsen, E. and H. McLaughlin. 1987. The morphogenetic alphabet: Lessons for simple-minded genes. *BioEssays* 7: 130–132.

Le Douarin, N. M. and M.-A. Teillet. 1973. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in the avian embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 30: 31–48.

Nishida, H. 1987. Cell lineage analysis in ascidian embryos by intracellular injection of a tracer enzyme. III. Up to the tissue-restricted stage. *Dev. Biol.* 121: 526–541.

Papaioannou, V. E. 2016. Concepts of cell lineage in mammalian embryos. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 185–198.

Pinto-Correia, C. 1997. *The Ovary of Eve: Egg and Sperm and Preformation*. University of Chicago Press, Chicago.

Weatherbee, S. D., R. R. Behringer, J. J. Rasweiler 4th and L. A. Niswander. 2006. Interdigital webbing retention in bat wings illustrates genetic changes underlying amniote limb diversification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 15103–15107.

Winter, R. M. 1996. Analyzing human developmental abnormalities. *BioEssays* 18: 965–971.

Woo, K. and S. E. Fraser. 1995. Order and coherence in the fate map of the zebrafish embryo. *Development* 121: 2595–2609.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

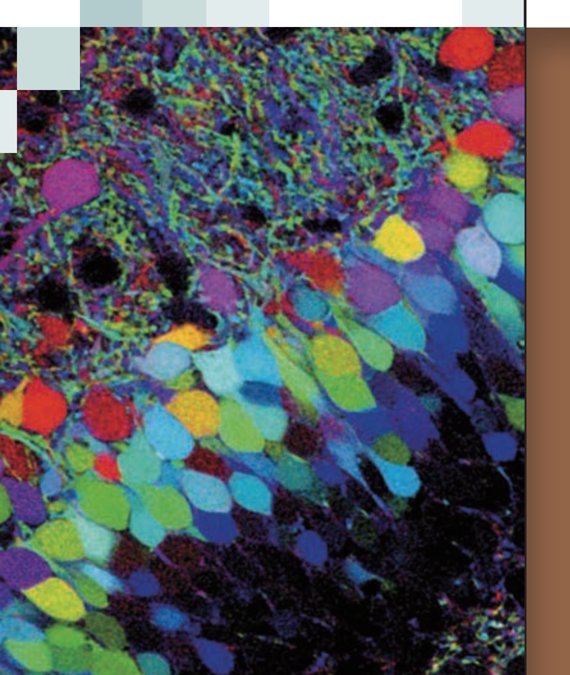
第 2 章

特征的特化

发育的图式化机制



一群个体或一伙克隆



在 1883 年，美国最早的胚胎学家之一布鲁克斯（William Keith Brooks）回想到，“物质世界最伟大的奇迹是在一个简单和无条理的卵中，存在一个产生明确的成体动物之力量”。他注意到，这个过程非常复杂，以至于“我们很难知道是否有希望发现它的答案、找到它真正的含义，以及它所隐藏的规律和原因”。的确，怎样从一个简单和无条理的卵得到一个异常有序的躯体是发育中一个最根本之谜。当今的生物学家经历了漫长的道路去寻找解决这个奥秘的方法，把它所“隐藏的规律和原因”一点一点地拼合在一起。这包括无条理的卵如何变得有组织化、不同的细胞如何差异性地解读相同的基因组，以及众多形式的信息传递，使细胞互相发出信号，以此来协调它们进行分化的独特图式。

在这一章里，我们将引入“细胞特化”这个概念，即细胞如何被特化成特定的命运，我们也将探索不同生物的细胞如何使用不同的机制来决定细胞命运。在第 3 章和第 4 章，我们将进一步挖掘引起细胞分化的遗传机制及相关的细胞信号。在第 5 章，我们将关注干细胞发育，

要点

未分化的细胞经历一个成熟的过程，起始于它们被定型成一个特定的细胞谱系，然后经过一个细胞命运被决定成一种特定细胞类型的时期，最终进入分化状态，这时的细胞获得了具有该细胞类型特征的基因表达图式。在一些生物中，细胞命运在很早期就被一些细胞质中的特殊分子所决定，这些分子随着受精卵的卵裂被分配到每个细胞中。在另一些生物中，细胞命运在早期胚胎中保持可塑性或者可以被改变，然后通过细胞之间不断的相互作用受到限制。在一些物种中（尤其是果蝇），最初只有细胞核分裂，产生一个在单一未分裂的细胞质中有很多核的合胞体。在这些胚胎中，在细胞核分离变成独立细胞时，细胞质信息分子的前后梯度决定它们要表达的基因。应用新的高端成像技术，如脑彩虹法，研究人员现在能把单个细胞的命运从合子追踪到成体。



图 2.1 从沙粒到精心制作的章鱼沙雕（照片由 Michael J. F. Barresi 提供，2014）。

例证在本章中定义的所有原理。

2.1 命运定型的层次

对于肉眼来说，一个广阔沙滩上的单个沙粒看起来是无序的，然而这些沙粒可以被模塑在一起形成复合的结构，如图 2.1 所示的沙雕，章鱼用其触手缚住了几个孩子。无序的单元如何变得有序，一堆沙子如何变成一个结构化的作品，或一群细胞如何变成高度复杂的胚胎？那些变成章鱼眼的沙粒在当天早晨被冲上沙滩时是否知道它们将要变成眼？很明显，需要给予这些无生命和无组织结构的沙粒一定的能量才能使它们变成沙雕上的眼。那么你们眼上的细胞会是什么情形？它们是否知道自己注定要变成眼的一部分？如果是，它们是什么时候知道的，是怎样被设置成这个命运的？

2.1.1 细胞分化

特定细胞类型的产生称为**分化**（**differentiation**），这是一个细胞停止分裂，发育成特定结构基础和明显功能特性的过程。然而，分化只是胚胎的一个未分化细胞被定型变成一个特殊细胞类型这个过程中所发生的一系列事件的最后和最明显的时期（表 2.1）。很明显，一个红细胞的蛋白质成分和细胞结构在根本上不同于眼的一个晶状体细胞和脑中的一个神经元。但是，在这些细胞产生生化和功能上的差异之前却有一个使细胞定型成特定命运的过程。一个细胞在命运**定型**（**commitment**）期间与胚胎中最邻近或最远端的细胞看起来没有区别，也显示不出来任何可见的分化标记，但其发育命运却受到了限制。

表 2.1 部分分化细胞的类型和它们的主要产物

细胞类型	分化细胞的产物	特化的功能
角质形成细胞（表皮细胞）	角蛋白	防止擦伤和干燥
红细胞（红血细胞）	血红蛋白	氧运输
晶状体细胞	晶体蛋白	光传递
B 淋巴细胞	免疫球蛋白	抗体合成
T 淋巴细胞	细胞因子	清除外源细胞，调节免疫应答
黑色素细胞	黑色素	色素生成
胰岛 β 细胞	胰岛素	调节糖类代谢
睾丸间质细胞（♂）	睾酮	雄性特征
软骨细胞	硫酸软骨素，II 型胶原蛋白	腱和韧带
成骨细胞（骨形成细胞）	骨基质	骨骼支撑
肌细胞（肌肉细胞）	肌动蛋白和肌球蛋白	肌肉收缩
肝细胞	血清蛋白和很多酶	产生血清蛋白和很多酶功能
神经元	神经递质（乙酰胆碱、5- 羟色胺等）	神经系统中的信号传递
母鸡输卵管小管细胞（♀）	卵清蛋白	营养和保护胚胎的卵白蛋白
昆虫卵巢滤泡细胞（♀）	卵壳蛋白	保护胚胎的卵壳蛋白

2.1.2　命运定型

命运定型的过程可以被分成两个时期（Harrison 1933；Slack 1991）。第一个时期是**特化**（**specification**）。如果一个细胞或组织被放置在中性的发育途径的环境中，如培养皿或试管，仍能自主地（通过自身）进行分化，它的命运就被特化（图 2.2A）。在特化时期，细胞命运的定型仍不稳定（即可以被改变）。如果一个特化的细胞被移植到与其特化方向不同的一组细胞中，移植细胞的命运就会通过与相邻细胞的相互作用而被改变（图 2.2B）。你们当中有很多人在步入发育生物学教室时可能仍然喜欢化学，但当你们体验到发育生物学的魅力后，就会受到影响而改变想法，成为一个发育生物学家。这也不是不可能的。

命运定型的第二个时期是**命运决定**（**determination**）。如果一个细胞或组织即便是被置入胚胎的其他位置，或在培养皿中与一簇特化方向不同的细胞混合后仍能自主地进行分化，它的命运就被决定（图 2.2C）。在这样的情况下，如果一个细胞或组织仍能按照它特化的命运进行分化，这时就可以假设它的命运定型是不可逆转的。我们还可以引用前面的例子，不管发育生物学课多么令人惊叹，你们还是不可动摇地决定成为一个化学家。

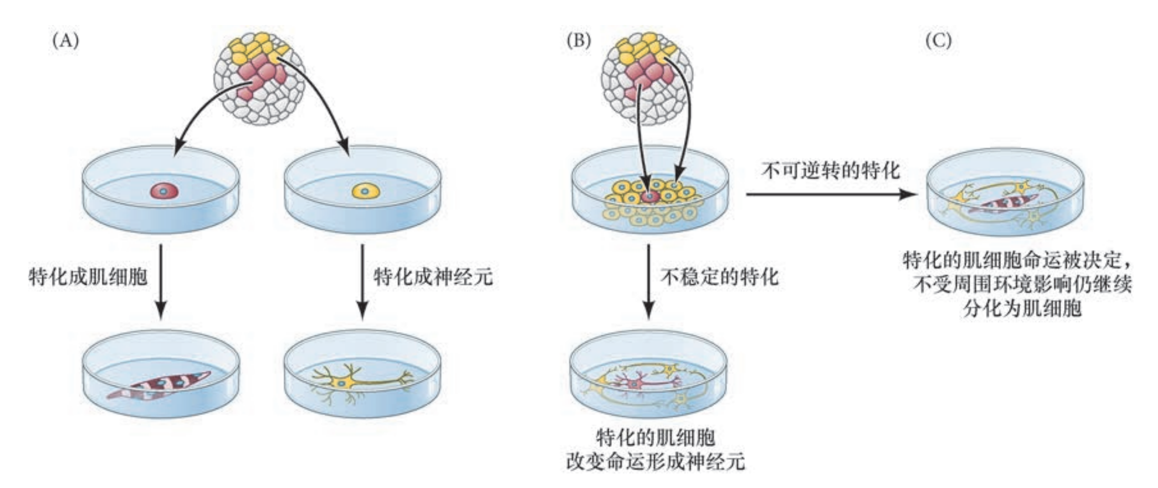


图 2.2　细胞命运决定。（A）被分离培养时，处在胚胎不同位置的两种囊胚细胞已经被分别特化成肌细胞和神经细胞。（B，C）两种细胞被培养在一起。（B）在一种情况下，暗红的细胞被特化成肌细胞，但命运没有被决定。因为与邻近细胞的相互作用，它改变成向神经分化的命运。（C）如果在培养时这个红色的细胞已经被定型和决定形成肌细胞，它将忽略与邻近细胞的相互作用，继续分化成一个肌细胞。

归纳来说，在胚胎发生过程中，一个未分化的细胞在经历特定的时期后成熟，这些时期逐渐将其定型成一个特定命运：首先是命运特化，然后是命运决定，最后是细胞分化。胚胎会使用三个主要的策略使细胞特化：自主性、条件性和合胞体性。不同物种的胚胎会采取这些策略的不同组合。

2.2　自主性特化

细胞命运定型的一个主要策略是**自主性特化**（**autonomous specification**）。在此，早期胚胎的卵裂球继承了卵细胞质中的一些关键决定因子。换句话说，卵细胞质不是均质的；相反，卵的不同区域含有各种影响细胞发育的**形态发生决定物**（**morphogenetic determinant**）。我们将在第 3 章看到，这些决定物经常是一些转录因子，通过调节基因表达把细胞指向特定的发育途径。在自主性特化中，一个细胞很早就“知道”它将要变成什么，并不需要与其他细胞相互作用。例如，即使是在笠螺属（*Patella*）海螺很早的卵裂时期，预定成纤毛细胞的卵裂球就可以被分离到培养皿中。在体外，它们会像在胚胎中一样，在相同的时间内发育成同样的纤毛细胞类型（图 2.3）。这样一个持续定型的纤毛命运说明，这些特殊的早期卵裂球的命运早已被特化和决定。

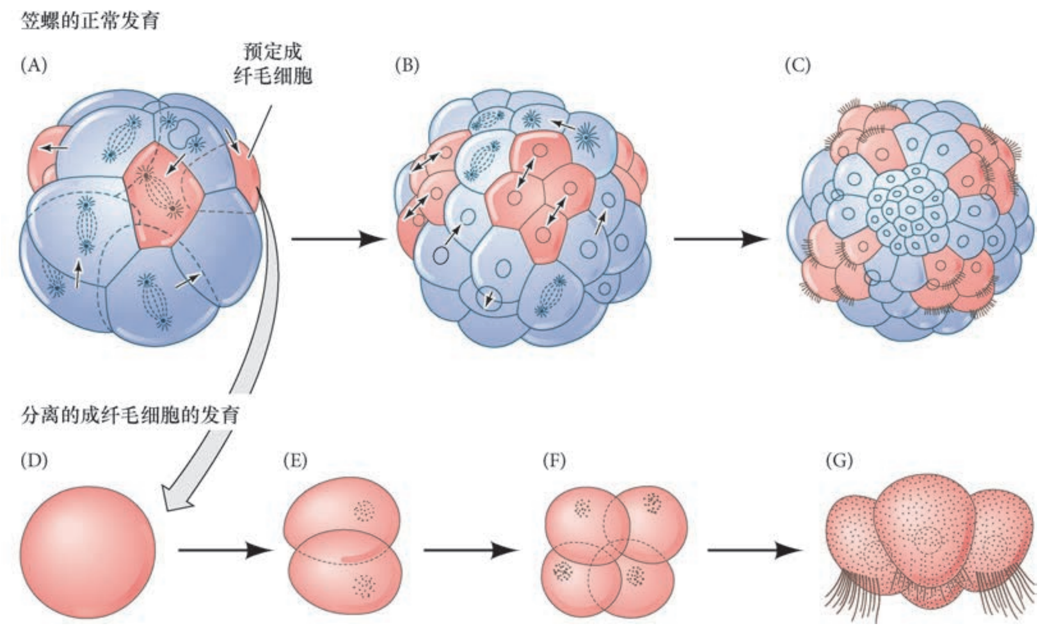


图 2.3 自主性特化。(A ～ C) 笠螺属海螺成纤毛（有纤毛的）细胞的分化。(A) 16 细胞期的侧面观；预定成纤毛细胞用粉红色显示。(B) 48 细胞期。(C) 有纤毛的幼体期，动物极观。(D ～ G) 从 16 细胞期分离出来，体外培养的笠螺成纤毛细胞的分化。即使是在独立培养的条件下，这些细胞仍继续分裂，在正确的时间发育出纤毛（参考 Wilson 1904）。

2.2.1 被囊动物的细胞质决定物和自主性特化

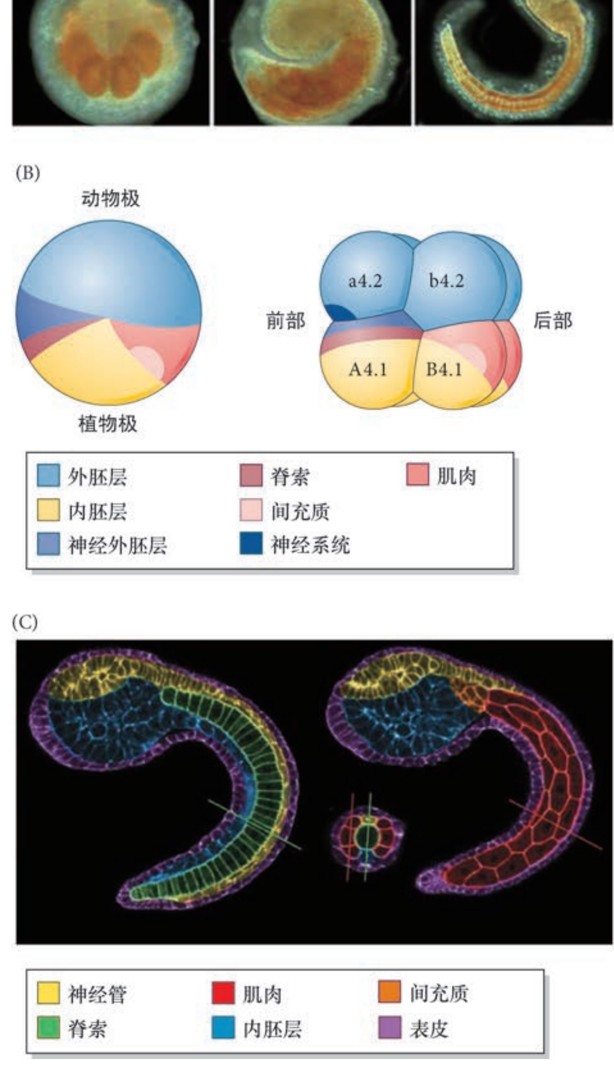
被囊动物（海鞘）胚胎为我们展示出一些最好的自主性特化的范例。1905 年，在美国伍兹霍尔 (Woods Hole) 海洋生物学研究所工作的胚胎学家康克林发表了著名的被囊动物柄海鞘 (*Styela partita*)[1] 的命运图谱。通过对发育胚胎的仔细观察，康克林注意到卵细胞质中划分出一个明显的黄色区域，后来分离成肌细胞的谱系（图 2.4）。康克林细致地追踪了每个早期细胞的命运，证明"幼体中所有主要器官的最终位置和等比关系都在 2 细胞期被不同种类的原生质标示出来"。这个黄色的色素为康克林提供了一个追踪每个卵裂球谱系的方便手段。然而，是不是每个卵裂球的命运都是按照它的谱系被决定了？也就是说，它们是自主性特化了吗？

康克林的命运图谱与自主性特化之间的关联被细胞剔除实验所证实。柄海鞘胚胎的肌肉形成细胞总是保留着黄颜色，很容易看到它们是来自 B4.1 卵裂球细胞质的一个区域。事实上，去除 B4.1 细胞（康克林的命运图谱显示它们将产生所有的尾部肌肉组织）导致幼体尾部肌肉的缺失 (Reverberi and Minganti 1946)。这个结果支持以下结论：只有来自早期 B4.1 卵裂球的细胞具有发育成尾部肌肉的能力。进一步支持自主性特化模式的实验是，即使是从胚胎中分离下来，每个卵裂球也将形成与命运图谱相对应的大多数细胞类型（图 2.5）。而且，如果把 B4.1 细胞中的黄色细胞质移植到另一些细胞中，这些细胞将形成肌细胞 (Whittaker 1973；Nishida and Sawada 2001)。将这些结果联系在一起，说明了控制细胞命运的一些关键因子差异性地被隔离在早期卵裂球的细胞质中。

在 1973 年，J. R. Whittaker 提供了引人注目的生物化学证据，显示了早期被囊动物胚胎的组织决定物在细胞质中的隔离。当 Whittaker 将胚胎的一对 B4.1 卵裂球进行独立培养时，这对卵裂球形成了肌肉组织；但是，其他卵裂球被分离出来后就不能产生肌细胞。很有意思的是，富集在黄色细胞质中的一个成分是编码肌细胞特异转录因子的 mRNA，这个转录因子被很恰当地命名为"Macho"（有"健壮"的意思），只有获得黄色细胞质（因此含有 Macho 因子）区域的卵裂球才能产生肌细胞（**图 2.6A**；Nishida

---

[1] 如今最常用于研究的被囊动物是玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis*)，这些研究极大地提高了人们对细胞谱系成熟、脊椎动物进化和发育，以及近来对调节神经管闭合物理特性的认知。在玻璃海鞘中，神经管闭合的物理特性与人有显著的相似性。



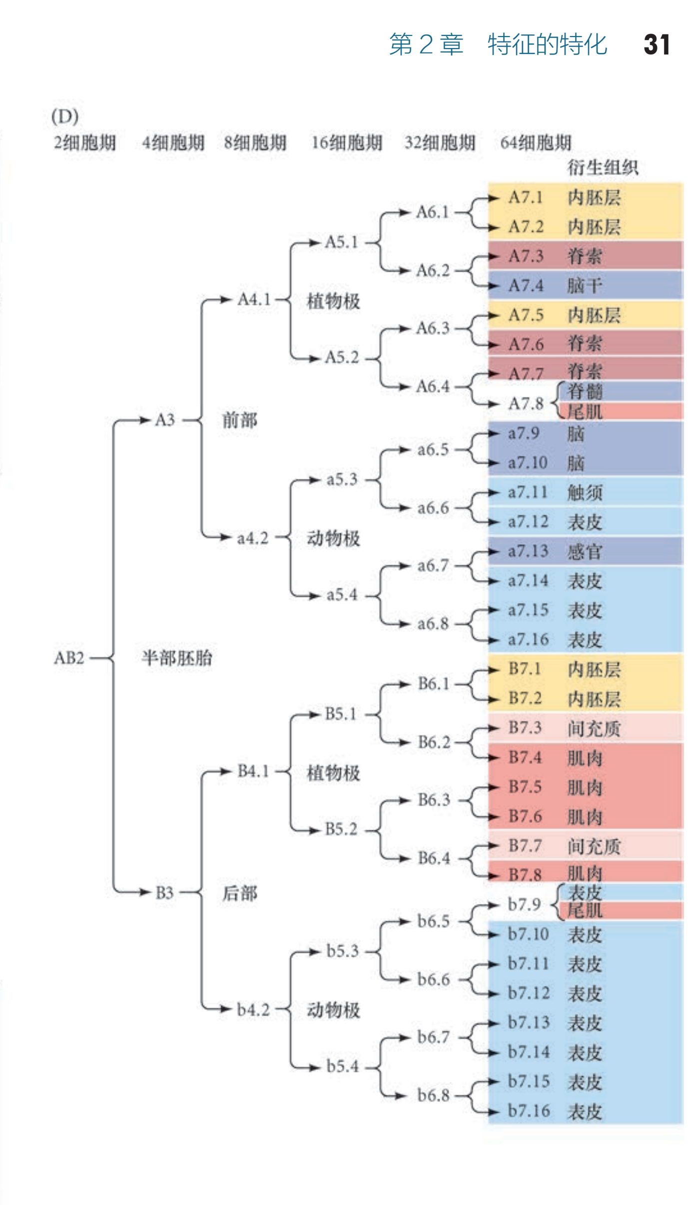


图 2.4　被囊动物的自主性特化。(A) 被囊动物黄新月出现在卵和幼体中（暗黄色—橙色—红色）。康克林的原图显示他在卵和幼体中对黄新月的观察（金黄色）。(B) 柄海鞘的合子（左侧），显示第一次细胞分裂之前不久的时期，并标注了细胞质区域的命运。在右侧的 8 细胞胚胎中显示这些区域在三次细胞分裂后的分布。(C) 被囊动物萨氏海鞘 (*Ciona savignyi*) 的共聚焦切面。各种组织类型用伪彩显示。(D) 柄海鞘命运图谱的线性版，显示胚胎中每个细胞的命运 (A 图来自 Swalla 2004，由 B. Swalla，K. Zigler 和 M. Baltzley 提供；B 图参考 Nishida 1987；Reverberi and Minganti 1946；C 图来自 Veeman and Reeves 2015)。

and Sawada 2001；Pourquié 2001 综述）。在功能上，Macho 蛋白对柄海鞘尾部肌肉的发育是必需的；缺失 Macho 的 mRNA 导致 B4.1 卵裂球失去向肌细胞分化的能力，而将 Macho 的 mRNA 注射到其他卵裂球中能产生异位肌细胞的分化（图 2.6B）。因此，这些被囊动物的尾部肌肉是通过在每次有丝分裂时获得和保留 Macho 的 mRNA 而自主性形成的。

观察发育 2.1　利用按时间顺序采集的三维数据构建成四维的海鞘图谱，为观察海鞘胚胎提供了一个互动的方式。

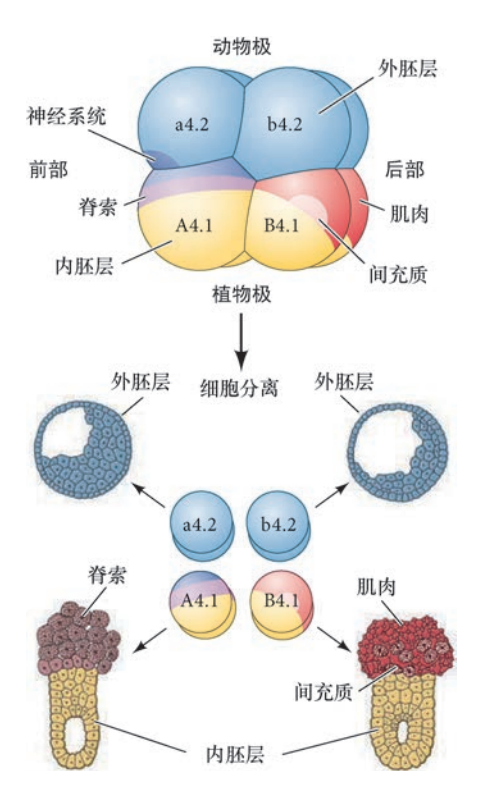


图 2.5 早期被囊动物胚胎的自主性特化。当 8 细胞期的 4 对卵裂球被分离时，每一对都会产生它们在胚胎中原本要形成的结构。但是被囊动物的神经系统是条件性特化的。命运图谱显示被囊动物胚胎的左右部分产生相同的细胞谱系。在图中，形成肌肉的细胞质用红色标示，以便使它与中胚层的关系保持一致（参考 Reverberi and Minganti 1946）。

拓展性问题

仔细观察 Macho 的 mRNA 在被囊动物胚胎中的定位（见图 2.6A），它是否均匀地分布在整个细胞，或只是定位在一个小的区域？一旦你确定了它的定位后，考虑一下这种分布是否与肌细胞谱系的自主性特化模式相一致。从细胞生物学的角度上看，你觉得一个特定 mRNA 的这种分布是如何建立的？

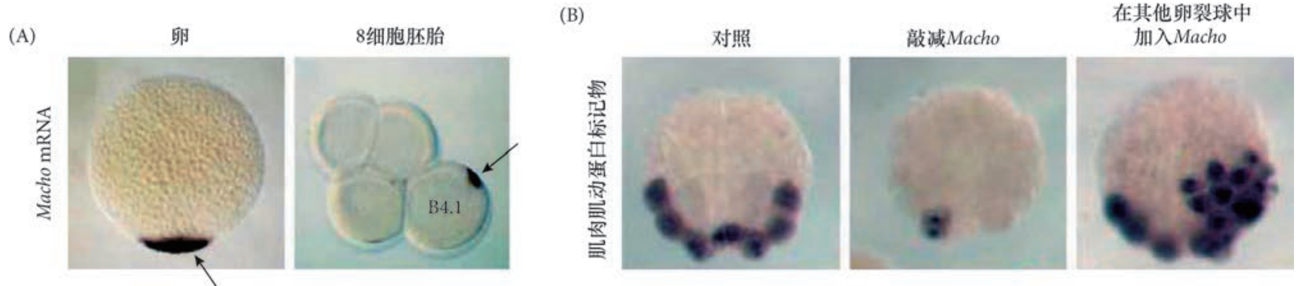


图 2.6 *Macho* 基因在被囊动物中调节肌细胞的发育。(A) 与黄新月一样，*Macho* 转录物定位在卵的植物极顶端，并差异性地表达在 B4.1 卵裂球。(B) 使用反向寡核苷酸敲减 *Macho* 的功能导致肌细胞分化降低，而在其他卵裂球中异位错误表达 *Macho* 导致肌细胞分化的扩张（来自 Nishida and Sawada 2001）。

2.3 条件性特化

我们刚了解到一个早期被囊动物胚胎中多数细胞的命运如何以自主性特化的方式被决定；但是，实际上被囊动物胚胎并不是完全以这种方式被特化，它的神经系统是以条件性特化的方式产生的。条件性特化是一些细胞通过与其他细胞相互作用，进而获得各自命运的过程。在这种情况下，一个细胞的未来命运受它与相邻细胞之间的一系列相互作用所决定，这包括细胞与细胞的接触（近分泌因子）、分泌的信号（旁分泌因子）或其局部环境的物理特性（机械应力），我们将在第 4 章详细阐述这些机制。举一个例子，如果发育命运是产生胚胎背部区域的一些脊椎动物（如蛙、斑马鱼、鸡或小鼠）的囊胚细胞被移植到另一个胚胎的预定腹部，移植的“供体”细胞将改变它们的命运而分化成腹部细胞（**图 2.7** 和**观察发育 2.2**）。而且，供体胚胎中细胞被去除的预定背部区域最后也能正常发育。

观察发育 2.2 观察 Barresi 博士在斑马鱼中进行类似的原肠胚细胞移植。供体细胞获取了新的位置（见图 2.7A）。

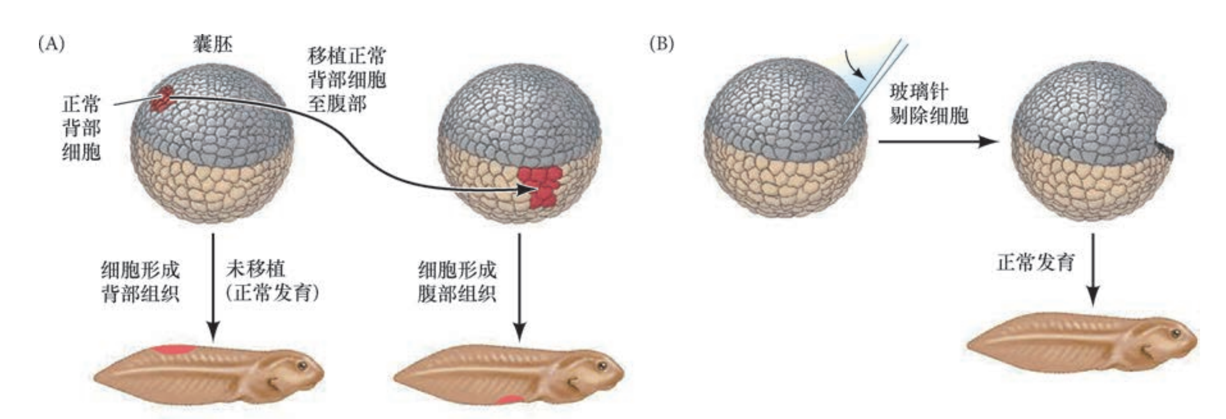


图 2.7　条件性特化。(A) 一个细胞的命运取决于它在胚胎中的位置，与一些邻近细胞的相互作用决定它的命运。(B) 如果从胚胎中剔除一些细胞，余下的细胞可以调节和补偿被剔除的部分。

条件性特化竟然是被试图反驳它的工作所证明，这也可以说是科研中一些颇具讽刺意味的现象之一。在 1888 年，魏斯曼提出了首个可试验的细胞特化模型，即种质学说，认为胚胎中每个细胞都可能自主发育。他大胆地提出了精子和卵子在量上和质上为新的生物贡献了同等的染色体；并且，他假定染色体携带有这个新生物的遗传潜能[2]。但是，并非染色体上的全部决定物都能进入胚胎的所有细胞。染色体被假定是通过不同决定物进入不同细胞的方式而划分，而不是均等分配。受精卵被假设携带一套完整的决定物，而一些体细胞被认为是保留了血形成决定物，另一些保留了肌细胞形成决定物，等等。这听起来是不是与自主性特化同样使人吃惊？只有那些注定变成生殖细胞（配子）的核中被假设含有所有类型的决定物。

2.3.1　细胞的位置的重要性：海胆胚胎的条件性特化

在提出种质模型时，魏斯曼提出一个可以立时测验的发育假想。基于蛙胚胎的命运图谱，魏斯曼声称，当第一次卵裂把胚胎的未来左右两侧分开时，将会在因此产生的卵裂球中出现“右”决定物与“左”决定物的分离。卢斯 (Wilhelm Roux) 用热针杀死 2 细胞期蛙胚胎的其中一个细胞来检验魏斯曼的模型，在这种情况下只有幼体的右部或左部能发育（**图 2.8**）。基于这个结果，卢斯声称特化具有自主性，并且每个细胞中都具有正常发育的所有指令。

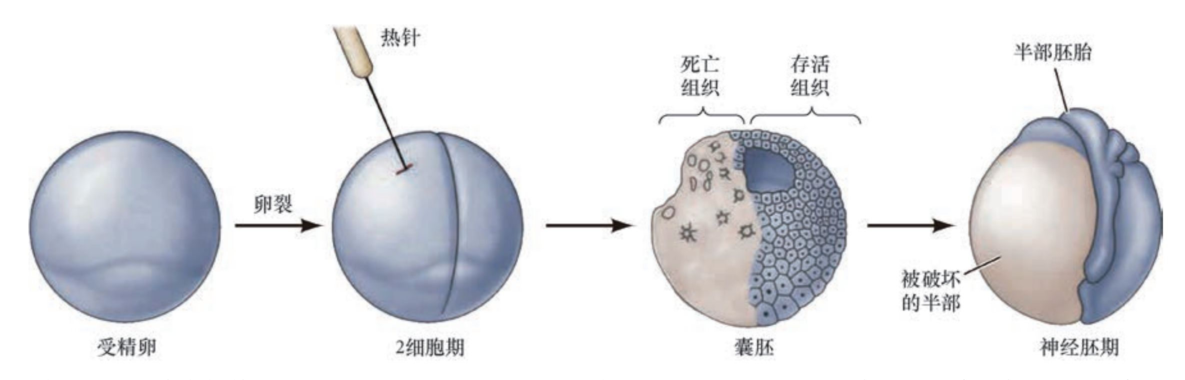


图 2.8　卢斯为证明自主性特化所做的尝试。破坏（但不是移除）蛙胚胎 2 细胞期的一个细胞导致半个胚胎的发育。

但是，卢斯的同事杜里舒 (Hans Dreisch) 却得到了相反的结果。卢斯用缺陷实验进行研究来回答一组卵裂球被破坏后胚胎如何发育这个问题，而杜里舒 (1892) 用分离实验把这个研究推进了一步（**图 2.9**）。他用剧烈震动的方法将海胆的卵裂球互相分离开来（后来，直接将胚胎置入无钙离子的海水中也能得到同样的效果）。让杜里舒惊讶的是，2 细胞期胚胎的每个卵裂球都能发育成一个完整的幼体。同样，

---

[2] 在重新发现孟德尔的工作大约 15 年之前，胚胎学家就开始思考遗传的染色体机制。魏斯曼 (1882，1893) 也推测，遗传性细胞核决定物的功能是精细制作细胞质中的活性物质。

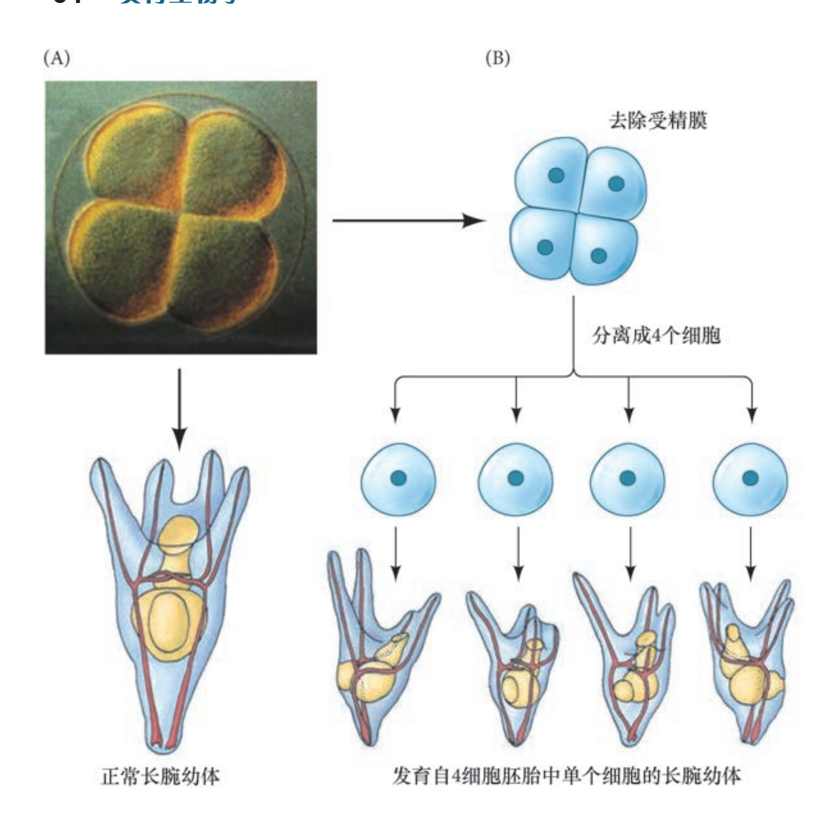


图 2.9 杜里舒对条件性（调节性）特化的证明。(A) 一个完整的 4 细胞期海胆胚胎发育成一个正常的长腕幼体。(B) 一个 4 细胞期的胚胎从受精膜中被取出来并将 4 个细胞进行分离，每个细胞都形成了一个小的但很正常的长腕幼体（所有的幼体都是以相同比例绘图）。但要注意，以这种方式得到的 4 个长腕幼体并不相同，尽管它们都具有产生所有细胞类型的能力。这样的差异也见于以相同的方式所产生的成体海胆（见 Marcus 1979）(A 图由 G. Watchmaker 提供)。

当杜里舒将 4 细胞或 8 细胞胚胎的卵裂球分离后，一些分离的细胞能产生完整的长腕幼体。这个结果与魏斯曼和卢斯的预测有显著的差异。每个卵裂球调整其发育后产生一个完整的生物，而不是自我分化形成预定的胚胎部分。这些实验首次提供了可观察的实验证据，显示一个细胞的命运取决于其相邻的细胞。杜里舒用实验手段去除一些细胞，这样就改变了胚胎中其他细胞的环境（剩余的细胞便有了新的邻居）。其结果是所有细胞的命运受到了改变并能支持完整的胚胎发育。换句话说，细胞为了适应条件而改变了命运。在条件性特化中，细胞之间的相互作用决定了它们的命运，而不是细胞命运受这种细胞类型中特定的细胞质因子所特化。

杜里舒在海胆中用了一个复杂的重组实验证实了条件性发育。如果实际上是某些细胞核决定物支配一个细胞的命运（如魏斯曼和卢斯提出的那样），那么改变细胞核在卵裂过程中的分配方式将会导致发育缺陷。海胆胚胎的前两次卵裂一般是经线裂，穿过动植物极，而第三次卵裂是纬线裂，将胚胎分割成 4 个上部细胞和 4 个下部细胞（**图 2.10A**）。杜里舒 (1893) 在两个玻璃板之间轻微压缩早期胚胎而改变了第三次卵裂的方向，因此使第三次卵裂与前两次一样，也是经线裂。当他释放压力后，第四次卵裂变成纬线裂。这样的操作使细胞核重新分配，将本来应该处在预定内胚层区域的细胞核定位在未来的外胚层区域。换句话说，一些本来应该产生腹部结构的细胞核进入背部细胞（**图 2.10B**）。杜里舒从这些胚胎中得到了正常的幼体。如果发生了细胞核决定物的分离，这个重组实验将会产生一个异常的畸形胚胎。因此，杜里舒得出了这样一个结论："在整体胚胎中一个卵裂球的相对位置一般来说可能会决定它将产生什么样的结构"。

这些实验结果的意义对胚胎学和杜里舒本人来说都是非常重要的[3]。第一，杜里舒证明了一个卵裂球被分离后的分化潜能（即它有可能形成的细胞类型）比它在胚胎中的预定命运（在正常发育过程中它将产生的细胞类型）要大得多。根据魏斯曼和卢斯的假设，一个卵裂球的预定潜能和预定命运应该相同。第二，杜里舒认为海胆胚胎是一个"协调的等潜能体系"，因为胚胎中所有可能的独立部分通过相互作

[3] 细胞核均等性的想法和细胞相互作用的能力最终使杜里舒放弃了科学研究。杜里舒把胚胎想象成一台机器，所以他不能解释胚胎如何弥补丢失的部分，或者一个细胞如何改变其命运而变成了另一种细胞类型。

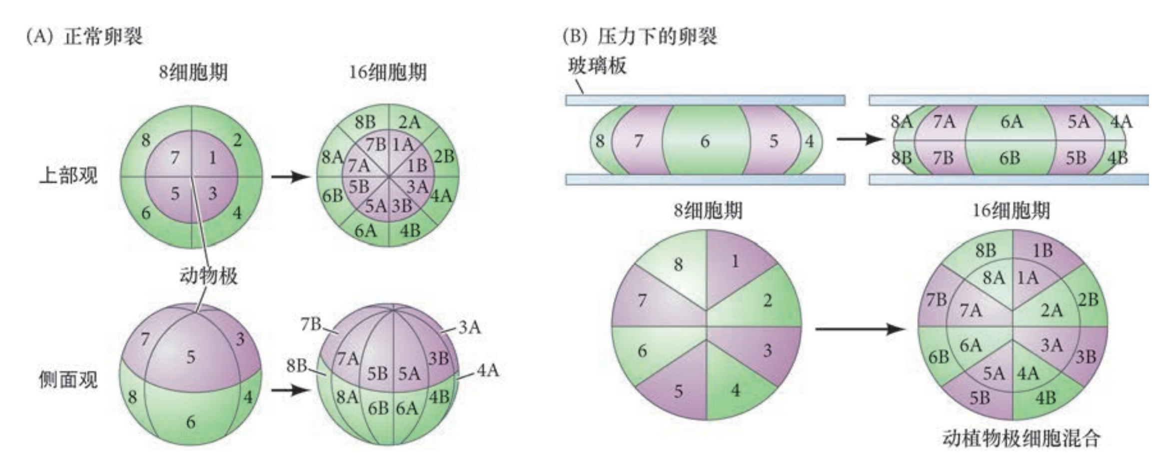


图 2.10　杜里舒改变细胞核分布的压力板实验。(A) 海胆 8 ～ 16 细胞期胚胎的正常卵裂，动物极观（上图）和侧面观（下图）。细胞核都被予以编号。(B) 因压力而形成的异常卵裂面，动物极观和侧面观（参考 Huxley and de Beer 1934）。

用来形成一个生物体。杜里舒的实验说明，细胞的相互作用对正常发育至关重要。而且，如果每个早期卵裂球在分离的状态下能形成所有的胚胎细胞，那么就可以断定在正常发育过程中细胞群体必须阻止它那样做 (Hamburger 1997)。第三，杜里舒认为一个细胞核的命运取决于它在胚胎中的位置。细胞间的相互作用决定了细胞的命运。

现在我们知道（在第 10 章和第 11 章也会描述），海胆和蛙同样都以自主性和条件性特化的方式来决定早期胚胎细胞的命运。而且，这两个动物类群在发育过程中使用类似的策略，甚至是类似的分子。在 16 细胞期的海胆胚胎中，一组称为小卵裂球的细胞从卵细胞质中继承了一套转录因子。这些转录因子使小卵裂球自主地发育成幼体的骨骼，但相同的转录因子也激活一些编码旁分泌和近分泌信号的基因，它们从小分裂球中分泌出来，条件性地特化周围的细胞。

传统上把大多数早期卵裂球受条件性特化的胚胎（特别是脊椎动物胚胎）称为调节性胚胎。但是，当我们对每个胚胎中自主性和条件性特化的方式有了更进一步的认识后，“嵌合性”和“调节性”胚胎的概念就显得越来越不合理。的确，早在一个多世纪以前，胚胎学家威尔逊 (Edmund B. Wilson 1894，1904) 就试图开始摆脱这些区分。

2.4　合胞体性特化

除自主性与条件性特化以外，还有同时采用这两种方式特化的第三个策略。含有很多核的细胞质称为一个合胞体 [4]，在这样一个合胞体中预定细胞命运的特化称为**合胞体性特化** (**syncytial specification**)。经历合胞体时期的胚胎的一个明显例子见于昆虫，如黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)。在早期卵裂过程中，细胞核经历 13 个周期的分裂，而细胞质却没有任何分裂。这样的分裂产生了一个被共同的细胞膜包围，很多核共享相同细胞质的胚胎。这样的胚胎称为**合胞体胚盘** (**syncytial blastoderm**；**图 2.11** 和**观察发育 2.3**)。

> **观察发育 2.3**　观察果蝇早期胚胎合胞体胚盘发育过程中核分裂的态势。

未来细胞的特征沿胚盘的前 - 后轴方向同时建立在胚胎的合胞体胚盘内部。所以，这些特征在没有

---

[4] 从真菌到人，很多生物中都有合胞体。具体的例子包括线虫生殖细胞的合胞体（由细胞质桥连接）、多核的骨骼肌纤维、免疫细胞融合后形成的巨大癌细胞。

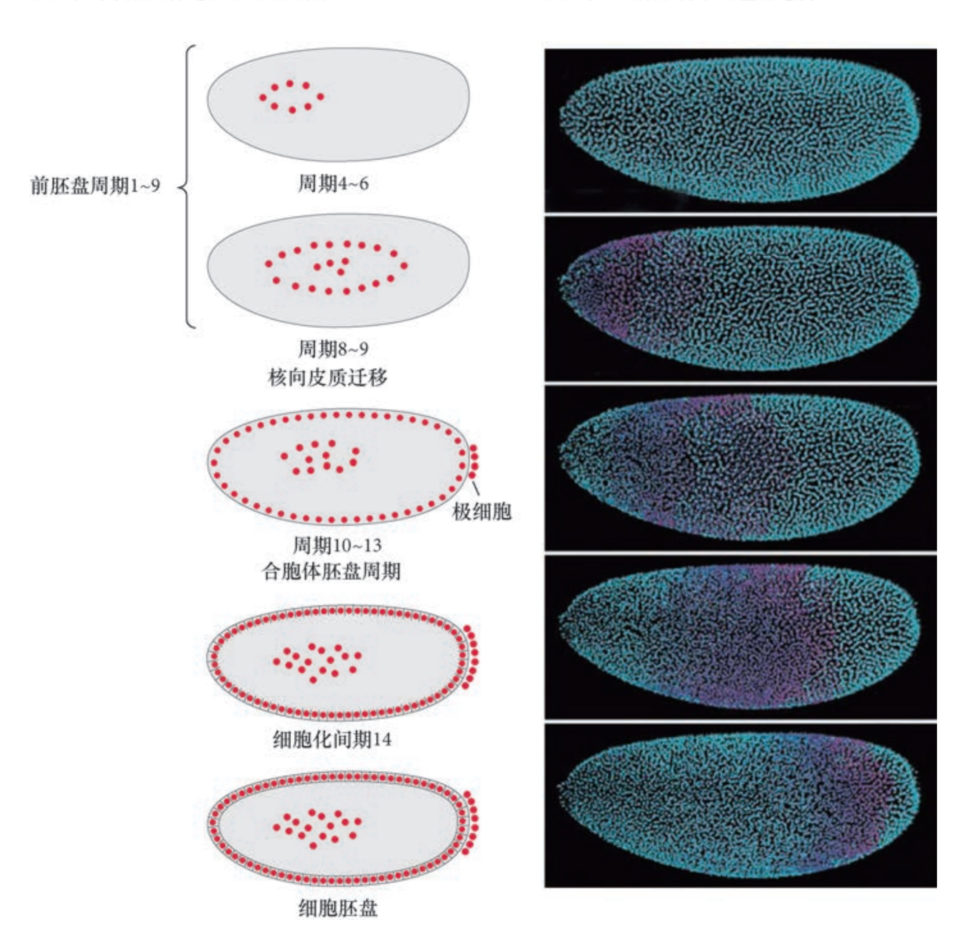


图 2.11　黑腹果蝇的合胞体胚盘。(A) 果蝇胚盘细胞化进程的示意图（核用红色显示）。(B) 果蝇胚胎发育中延时成像视频中的几个静帧，显示有丝分裂前的核（蓝色）和进行活跃有丝分裂的核（紫色）(A 图参考 Mazumdar and Mazumdar 2002；B 图来自 Tomer et al. 2012)。

膜将核分割成独立细胞的状态下就已经建立起来。膜最终的确通过一个细胞化的过程在核的周围形成，而这个过程发生在胚胎即将进入原肠胚形成前的第 13 次有丝分裂之后（图 2.11)。一个引人入胜的问题是，细胞命运，也就是那些被**决定**（**determined**）将要形成头、胸、腹、尾的细胞，在细胞化之前是如何被特化的。是不是像我们在自主性特化中看到的那样，一些决定因子在胚盘中被分隔到特定的位置？或者，是不是与条件性特化类似，合胞体中的核从它们与邻近核的相对位置上获得了各自的特征？针对这两个问题的答案都为“是”。

2.4.1　反向的中轴梯度确立位置信息

正如我们在其他卵中看到的那样，众多的研究显示果蝇的卵细胞质也不是均质的。正相反，它含有在前 - 后轴方向决定细胞命运的位置信息（Kimelman and Martin 2012 综述）。在合胞体胚盘中，细胞前部的核与一些只表达在前部的**细胞质决定因子**（**cytoplasmic determination factor**）相接触，反之亦然。核之间的相互作用及决定因子在量上的差异特化细胞的命运。重要的是，决定因子的梯度在受精前卵成熟的过程中就已经建立。受精后，由于核经历同步态势的分裂（见图 2.11B)，每个核沿前 - 后轴方向定位在特定的坐标位置，并且会接触到特定浓度的决定因子。

核怎样在合胞体胚盘中维持特定的位置？这是通过它们自身的细胞骨架体系的作用来完成的：它们的中心体、隶属于中心体的微管、肌动蛋白微丝，以及相互作用蛋白（Kanesaki et al. 2011；Koke et al. 2014)。具体来说，当核处于分裂间期，每个核放射出由中心体组织形成的动态微管延伸，建立一个“轨迹”并施力于其他核的轨迹（**图 2.12** 和**观察发育 2.4**)。每当核分裂时，放射状的微管排列便重新建立，施力于邻近核的轨迹，确保核在整个合胞体中规则的间隔。在胚胎中维持核之间的位置关系对合胞体的有效

特化至关重要。

在早期发育过程中保持核位置的稳定能使每个核接触到不同剂量的决定因子，这些因子以梯度的形式分布在共同的细胞质环境中。一个核可以根据它接触的细胞质决定物的浓度来解读其位置（是否要变成前部的一部分、中部，或躯体的后部分）。每个核也因此被遗传编程为一个特定的特征。这些决定物属于**转录因子**（**transcription factor**），是一些结合 DNA 并调节转录的蛋白质。在第 3 章，我们会更详细描述转录因子在发育中的作用。

我们将会在第 9 章详述，果蝇胚胎的最前端表达一个转录因子，称为 Bicoid，其 mRNA 和蛋白质浓度在卵的前部最高，向后部逐渐降低（**图 2.12B，C**；Gregor et al. 2007；Sample and Shvartsman 2010；Little et al. 2011）。Bicoid 在整个合胞体的浓度梯度是扩散，以及蛋白质和 mRNA 降解机制的综合结果。另外，卵的最后部形成一个从后到前的 Caudal 转录因子梯度。因此，果蝇卵的长轴上存在反向的梯度：Bicoid 在前部的浓度高，而 Caudal 在后部的浓度高（**图 2.12D**）。Bicoid 和 Caudal 被认为是**形态发生素**（**morphogen**），因为它们以浓度梯度的形式存在，并具有以不同的阈值浓度调节不同基因表达的能力。我们会在第 4 章详细讨论形态发生素，但是它们在胚胎发育过程中的反复使用值得被纳入全书的各个部分。

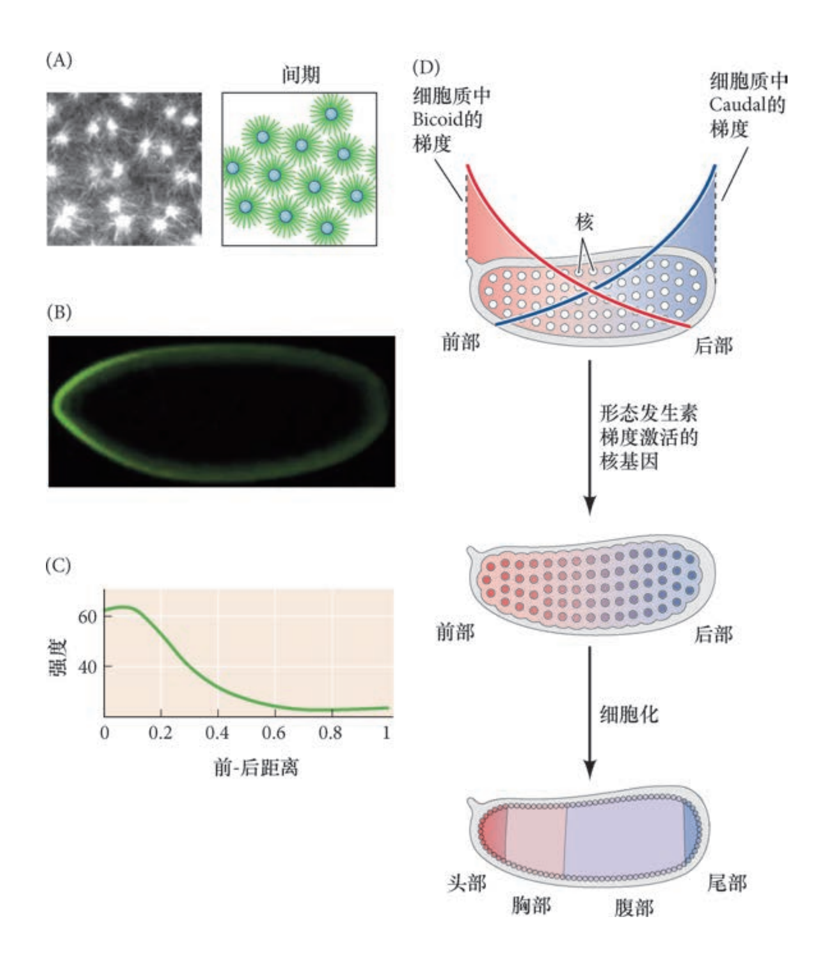


图 2.12　黑腹果蝇合胞体特化过程中核的位置和形态发生素。细胞核动态地排列在早期胚胎的合胞体内部，并被与之结合的细胞骨架元件固定在各自的位置。（A）果蝇合胞体第 13 核周期的间期。左图：EB1-GFP（末端结合蛋白与绿色荧光蛋白形成的融合蛋白）显示每个核所结合的微管，这些微管呈星形体阵列，确立核的轨迹，每个核的轨迹与邻近的星形体呈现部分重叠（见观察发育 2.4）。右图：示意图说明核怎样在间期中维持它们的位置以建立轨迹。这个图中的核与细胞质阵列图式是通过计算机模型产生的。（B）Bicoid 蛋白在早期胚胎中的表达用绿色显示。（C）Bicoid 蛋白在前 - 后轴方向的量化显示前部具有最高浓度，然后向后部逐渐降低。（D）前 - 后轴方向的特化起始于卵细胞质中形态发生素的梯度，准确地说是转录因子 Bicoid 和 Caudal。这两个蛋白质在前 - 后轴方向的浓度和比例将一个位置与其他任何位置区分开来。当核开始分裂时，不同浓度的形态发生素差异性地激活各种核基因的转录，特化幼体和成体果蝇的体节特征（如第 9 章所述，Caudal 蛋白的梯度是通过卵细胞质成分的相互作用自行建立的）（A 图来自 Kanesaki et al. 2011；B 图来自 Koke et al. 2014；C 图来自 Sample and Shvartsman 2010）。

作为形态发生素，Bicoid 和 Caudal 蛋白在合胞体核中激活不同的基因。在 Bicoid 量高而 Caudal 量少的区域，核受到指令激活一些形成头部的基因；在具有较少量 Bicoid 和少量 Caudal 的区域，核受到指令激活一些形成胸部的基因；而在没有或有少量 Bicoid 但有大量 Caudal 的区域，被激活的基因形成腹部结构（Nüsslein-Volhard et al. 1987）。因此，当合胞体核被纳入细胞后，这些细胞的整体命运就被决定。之后，每个细胞的特定命运将以自主性（来自细胞化后获得的转录因子）或条件性（来自一个细胞与其邻近细胞的相互作用）方式被决定。

观察发育 2.4 核分裂视频显示果蝇合胞体胚盘中与核分裂相关的微管动态。

2.5 彩虹般的细胞特征

表 2.2 概括了细胞特化的三种主要策略，每一种策略都以不同的方式为每个胚胎细胞提供一组决定物（通常是一些转录因子），这些决定物将会激活特定基因的表达，并使细胞向一种特定的类型分化。“细胞类型”这个名称是不是鉴别一个细胞的最准确方式？为了回答这个问题，我们需要能够在一段时间内观察和分析胚胎中的单个细胞。在第 1 章我们讨论了细胞命运标记技术，这个技术能在整个发育过程中使用可追踪的染料来标记细胞，然后确定细胞的命运（Klein and Moody 2016）。目前，标记细胞命运的一种遗传手段已经建立起来，它将不同细胞用一些可能的颜色标记，看上去貌似彩虹。这个技术可以用来在一个组织中甚至是在一个整体胚胎中鉴别每个独立的细胞（Livet et al. 2007）。这个方法被称为**脑彩虹法**（**Brainbow**），因为最早的研究主要是描述了发育过程中的小鼠脑细胞。但它可以用于任何生物，只是名称有所不同，例如，在果蝇中称为“蝇彩虹法”（“Flybow”）和“果蝇脑彩虹法”（“dBrainbow”），在小鼠中称为“彩虹法”（“Rainbow”）和“五彩斑斓”（“Confetti”），而“斑马彩虹法”（“Zebrabow”）则是用于标记斑马鱼细胞的一个名称（Weissman and Pan 2015）。

表 2.2 特化细胞类型的方式

自主性特化
在大多数无脊椎动物中占主导地位
卵中一些细胞质分子的差异性分配使细胞特化
物种中每个胚胎不变式的卵裂产生一些相同的谱系，卵裂球的命运一般不变
细胞类型的特化发生在任何大规模的细胞迁移之前
导致“嵌合性”发育，如果一个卵裂球丢失，其他细胞不能改变命运
条件性特化
在脊椎动物和少数无脊椎动物中占主导地位
通过细胞之间的相互作用进行特化，细胞之间的相对位置很重要
可变式卵裂，细胞没有被赋予不可变的命运
大规模的细胞重排和迁移发生在特化之前或伴随着特化
“调节性”发育的能力使细胞通过与邻近细胞的相互作用获得不同的功能
合胞体性特化
在多数昆虫纲中占主导地位
在胚盘细胞化之前，细胞质区域的相互作用特化躯体部分
可变式卵裂对特定的细胞核产生可变更的细胞命运
细胞化后，既有自主性特化，也有条件性特化

来源：参考 Davidson 1991。

脑彩虹法体系激发不同组合和不同强度的各种荧光蛋白的表达（绿色、红色、蓝色等；见 Weissman and Pan 2015），因此产生出荧光蛋白组合的随机分布，使每个细胞呈现出不同的颜色，并且能稳定地被其后代细胞所继承。这是怎样实现的？答案是每个荧光蛋白的基因以无活性的状态被转入目的生物的基因组，但是，当接触到 Cre 重组酶时（一种在特定 DNA 位点上催化重组事件的酶），荧光蛋白基因之间的随机重组使它们变得有活性（**图 2.13A**）。基于每个细胞中活性荧光蛋白的不同组合所产生的色彩，不同的细胞就可以被区分出来。

脑彩虹法使研究人员能够在任何时期的任何组织中研究细胞的形态及它们之间的相互作用，使我们能

够绘制早期胚胎中一个独立细胞的发育谱系，从其子代细胞直到最后终点。例如，Kevin Eggan 的研究组使用“彩虹法”体系标记小鼠胚胎的早期卵裂细胞来回答以下问题（Tabansky et al. 2013）：变成胚胎本体的细胞或胚外的细胞的最初谱系选择是一个随机性的还是一个调节性的过程？他们发现这是非随机性的（图 2.13B）。上述例子充分显示出这个创新性技术有多么强大，它能为我们在整体胚胎水平上对细胞群体中一个独立细胞的生命史提供新认知。

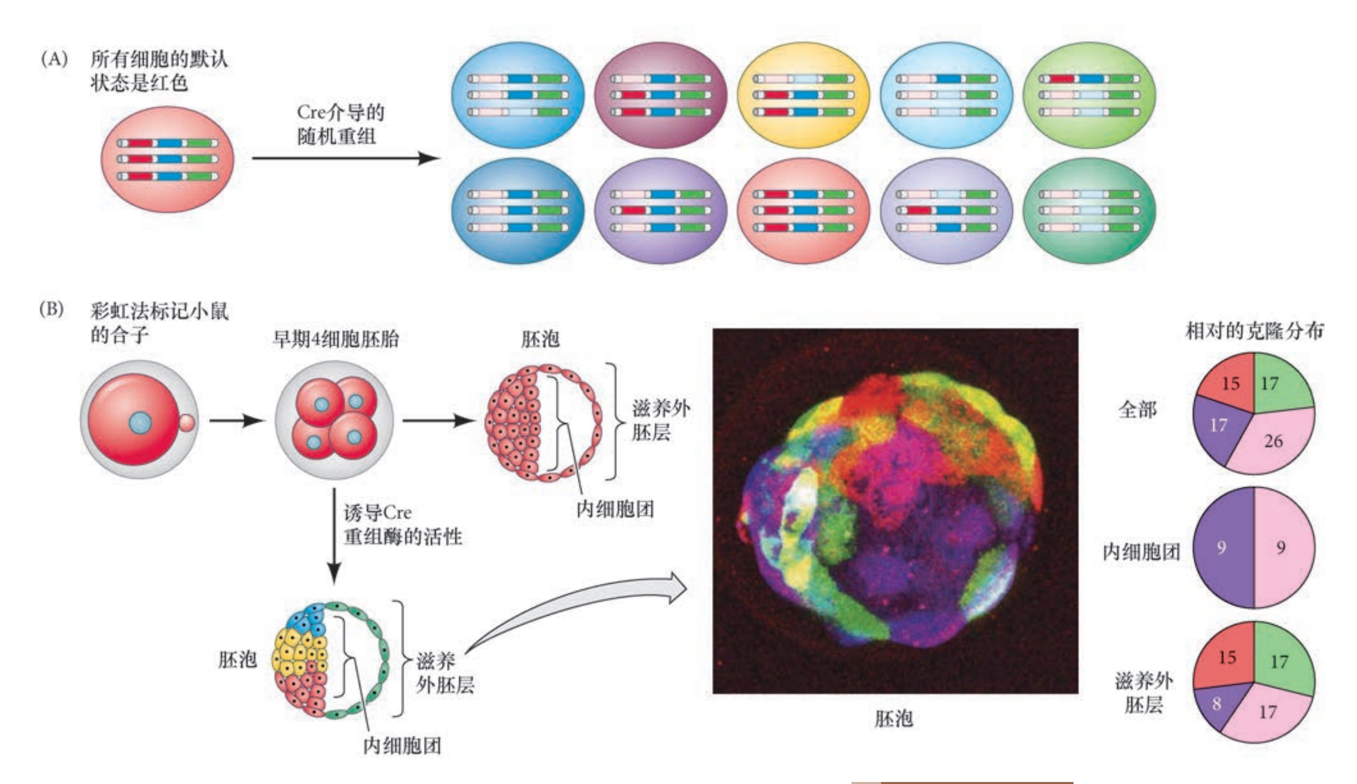


图 2.13　脑彩虹法谱系示踪系统。(A) 使用脑彩虹法遗传体系以不同的荧光颜色或色相随机修饰细胞，这个方法是将多拷贝的不同荧光蛋白基因插入目的生物的基因组而实现的。通过 Cre 重组酶的作用，这些荧光蛋白基因的不同组合被激活，产生各种不同的颜色。在这个例子里，每个细胞在默认状态下表达红色荧光蛋白；但是，受 Cre 介导的重组后，蓝绿色、黄色或绿色荧光蛋白开始以随机的方式表达（这个例子中标记了 10 个不同颜色的细胞）。(B) 在小鼠体系中的彩虹法是由脑彩虹法演变而来的，并且有类似的效果。在这个实验中，重组起始于小鼠早期胚泡的发育过程中，以便用特定的颜色永久性地标记滋养外胚层（TE）和内细胞团（ICM）中的细胞。然后在一段时间内追踪这些颜色并量化细胞群体（饼图），结果显示统计学上的显著差异分布，说明它们是来自早期被标记细胞的后代（A 图参考 Weissman and Pan 2015；B 图参考 Tabansky et al. 2013）。

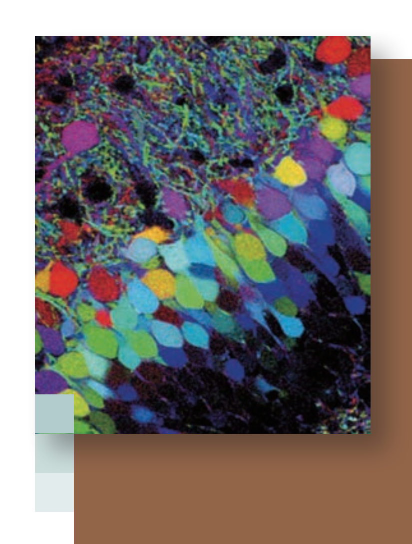
拓展性问题

在黑腹果蝇中，如果是 Bicoid 和 Caudal 的反向浓度梯度机制决定了前 - 后轴的特化，那么同样的机制是否适用于更大一些或每个体节大小有差异的两翼昆虫胚胎，或者这个机制需要有一些改变？这个梯度到底有多么准确，它需要多么准确才能将一个核（细胞）指向一个特定谱系的成熟途径？

下一步的研究

现在你已经认识到了策略性定位的细胞质决定物及细胞之间的相互作用直接调节一个特定细胞类型的成熟和分化进程。如果每个细胞类型都像动物界的一个物种会怎样？这个比拟暗示，在单个细胞水平上仍存在诸多的多样性。因此，下一步需要确定一个特定类型的细胞群体中的独立细胞是否具有真正的“独立”性，具备一个独有的特征。挑选你认为重要的细胞类型并设想用脑彩虹法体系在这个组织中标记独

立的细胞。你会怎样去确定每个细胞是否不同于其邻近细胞，即使它们在形态上看起来都一样？你会去寻找什么？你能采集到什么样的数据，将一个细胞与另一个细胞区分开来？对这些问题一定会有不同的答案，但第 3 章（“差异性基因表达”）会为你提供很多线索。



开篇图的思考

一群个体或一伙克隆？这是在小鼠海马切片上用多色脑彩虹法标记神经元后提出的问题，Tamily Weissman 和 Jeff Lichtman 制作了该图（Weissman and Pan 2015）。哲学家克尔凯戈尔（Søren Kierkegaard）曾经写到，个体内在的真相能被群体的杂音和方向所掩盖。目前，发育生物学领域在广义细胞类型这个层次上基本明确了分化，研究人员对我们在单细胞水平上遗漏了多少“真相”这个问题产生了好奇。在这个照片中，每个细胞都通过实验方法被不同的荧光蛋白以随机的方式标记出来，这使我们产生了一个错觉，认为那些神经元是不一样的。它们的确不一样吗？如果是，有多大程度的差异？如果一些细胞在形态上看起来都一样，我们怎么确定一个细胞与其他细胞有所不同？最令人兴奋的是，使用脑彩虹法这样的新技术，对细胞特化的研究也越来越接近细化各种单细胞特征的差异。所以，当你再次出现在一班学生中，或者与一群人欢呼或接力时，就会反映出这个群体中个体之间的共性和差异。将来有一天，我们可能会具备在个体水平上反映出一些细胞特征的信息（图由 T. Weissman 和 Y. Pan 提供）。

2 要点总结

特征的特化

1. 细胞分化是一个细胞获得一种特定细胞类型所特有的结构和功能特征的过程。
2. 从一个未分化的细胞到一个有丝分裂后分化的细胞类型，一个细胞经历了不同水平的命运定型成熟过程。
3. 一个细胞首先被特化为一个特定的命运，即使是在分离的状态下它也会发育成该细胞类型。
4. 如果一个细胞被置入一个新环境时仍能向预定的细胞类型发育成熟，它的命运就被定型或决定。
5. 有三种不同的细胞特化方式：自主性、条件性和合胞体性。
6. 自主性特化指的是胚胎中的细胞具有必要的细胞质决定物，其功能是将细胞定型至特定的命运。这些细胞即便是在分离的状态下也会向它们的预定细胞类型成熟。被囊动物胚胎的细胞就是最好的例子。
7. 康克林首次观察到被囊动物胚胎中的黄新月，证明了含有这种黄新月的细胞形成肌肉。被囊动物中肌细胞的命运取决于转录因子 Macho。
8. 条件性特化是指一个特定细胞特征的获得取决于细胞在胚胎中的位置，或更准确地说，取决于一个细胞与其他细胞的相互作用以及它所接触的一些分子。条件性特化的一个极端的例子是海

胆幼体完全正常地发育自分离的单个卵裂球。

9. 多数物种既有从自主性特化，也有从条件性特化发育而来的细胞。

10. 细胞命运的图式也可以在一个合胞体中布局，称为合胞体性特化，如果蝇胚胎的胚盘。

11. 细胞骨架维持合胞体中核的位置，这使得那些核能够被反向的形态发生素梯度所特化，即 Bicoid 和 Caudal。

12. 脑彩虹法这样的遗传学技术使得科学家能够追踪单细胞的发育史，有助于进一步确定细胞特征的含义。

拓展阅读

Klein, S. L. and S. A. Moody. 2016. When family history matters: the importance of lineage analyses and fate maps for explaining animal development. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 93–112.

Little, S., G. Tkačik, T. B. Kneeland, E. F. Wieschaus, and T. Gregor. 2011. The formation of the Bicoid morphogen gradient requires protein movement from anteriorly localized mRNA. *PLoS Biol*. 3: e1000596.

Livet, J. and 7 others. 2007. Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system. *Nature* 450: 56–62.

Nishida, H. and K. Sawada. 2001. macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis. *Nature* 409: 724–729.

Tabansky, I. and 11 others. 2013. Developmental bias in cleavage-stage mouse blastomeres. *Curr. Biol*. 23: 21–31.

Weissman, T. A. and Pan Y. A. 2015. Brainbow: new resources and emerging biological applications for multicolor genetic labeling and analysis. *Genetics* 199: 293–306.

Wieschaus, E. 2016. Positional Information and cell fate determination in the early drosophila embryo. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 567–579.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

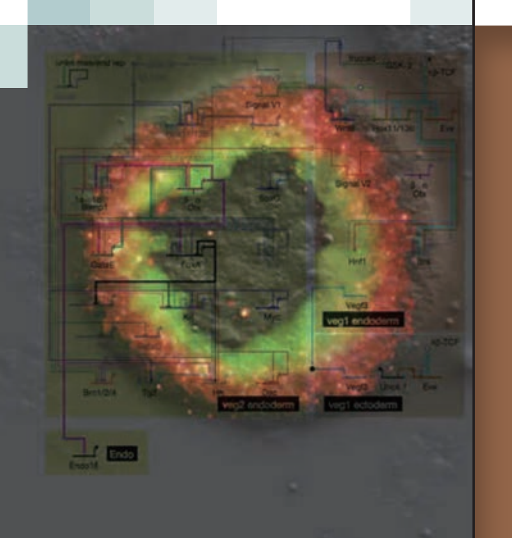
第 3 章

差异性基因表达

细胞分化的机制

细胞分化的机制是什么？

一个细胞能变成很多细胞及很多细胞类型，这似乎是胚胎发育中一个不可思议的现象。在这样一个多细胞的生物体中，多样化的细胞类型是如何来自一个像受精卵这样的单一细胞？在 20 世纪初的细胞学研究证明了生物体所有细胞中的染色体都是受精时建立的那些染色体的有丝分裂后代（Wilson 1896；Boveri 1904）。换句话说，一个体细胞核与其他体细胞核有相同的染色体，因此也有相同的一套基因。这个称为**基因组均等性**（**genomic equivalence**）的基本概念带来了一个明显的概念困境。举一个例子，如果身体的每个细胞都有编码血红蛋白和胰岛素基因，那为什么血红蛋白只表达在红细胞，而胰岛素蛋白只表达在一些胰腺细胞？基于基因组均等性的胚胎学证据（也基于细菌的基因调控模型），在 20 世纪 60 年代出现一个共识，这个问题的答案就是**差异性基因表达**（**differential gene expression**）。



要点

细胞内不同蛋白质的选择性表达产生细胞的多样性。当单细胞的合子通过分裂产生一个生物体的所有细胞时，这些细胞中的差异性基因表达就会控制它们向各种细胞类型的成熟。很多靶向 DNA 的可及性、RNA 的产生和加工、蛋白质的合成和修饰等调节机制都能导致差异性基因表达。这些机制包括一些通过结合基因的启动子来增强或阻止转录的特定转录因子、通过修饰组蛋白来改变染色质的可及性、通过 RNA 的降解和可变剪接来改变蛋白质构建的密码信息。另外，蛋白质的翻译调控和翻译后修饰，以及蛋白质转运的变化都会影响蛋白质的合成和功能。在不同的时间内及不同的细胞中使用这些机制就能随着胚胎的发育而产生不同的细胞类型。

3.1 差异性基因表达的定义

差异性基因表达是细胞基于具有活性或“被表达”的独特的基因组合而产生差异的过程。通过表达不同的基因，细胞能产生不同的蛋白质，导致不同细胞类型的分化。有三种差异性基因表达的假说。

1. 一个生物的每个体细胞核都含有在受精时建立的完整基因组。用分子的术语说，就是所有分化细胞中的 DNA 都是相同的。
2. 在分化细胞中未被使用的基因既没有被破坏，也没有发生突变，它们仍保持被表达的潜力。
3. 在每个细胞中只有很少比例的基因组被表达出来，它所合成的一部分 RNA 是该细胞类型特异的。

在 20 世纪 80 年代后期，人们就已经很清楚地认识到基因表达可以在 4 个水平上受到调节，以至于不同的细胞类型合成不同的蛋白质。

1. 差异性基因转录调节哪些核基因将被转录成核 RNA。
2. 选择性核 RNA 加工调节哪些转录的 RNA（或一个核 RNA 的哪些部分）能进入细胞质中变成信使 RNA。
3. 选择性信使 RNA 翻译调节细胞质中哪些 mRNA 被翻译成蛋白质。
4. 差异性蛋白质修饰调节哪些蛋白质被允许留在细胞中和（或）在细胞中行使功能。

一些基因（如那些编码血红蛋白的珠蛋白亚基的基因）在以上 4 种水平上都受到调节。

发育辅导课 差异性基因表达 在这个辅导课中，Michael Barresi 博士讨论基因调控的基本原理，以及基因调控的差异如何产生独特的发育图式。

网络话题 3.1 **是基因组还是细胞质指导发育？** 遗传学家和胚胎学家组成两个阵营。遗传学家确定是基因控制发育，而胚胎学家通常更偏向细胞质。两个阵营对于它们的观点都有很好的证据。

网络话题 3.2 **发育遗传学的起源** 对差异性基因表达的最初假设来自 C. H. Waddington、Salome Gluecksohn-Waelsch，以及其他对胚胎学和遗传学都有了解的科学家。

3.2 中心法则的快速入门

为了正确地理解调节一个基因差异性表达的所有机制，你必须首先了解生物学的中心法则原理。**中心法则**（**central dogma**）是通过信息的使用和传递在细胞中产生蛋白质的一系列事件（图 3.1）。这一理论的核心是双链 DNA 中脱氧核苷酸的排列顺序，它为制造特定蛋白质所需的准确氨基酸组合提供信息编码或蓝图。但是，蛋白质不是从 DNA 直接制造出来的；相反，编辑在 DNA 碱基序列上的信息首先被复制或转录成由类似分子组成的一个单链多聚体，称为核核糖核酸（nRNA）或核 RNA。将 DNA 复制成 RNA 的过程称为**转录**（**transcription**），从一个特定基因上产生的 RNA 通常被称为转录物。尽管转录的核 RNA 上含有编码一个蛋白质的信息，它也能包含不编码蛋白质（简称“非编码”）的信息。核 RNA 链通过加工而删除非编码的区域并对 RNA 链的两端进行保护，产生**信使 RNA**（**messenger RNA，mRNA**）分子。然后，mRNA 被转运出细胞核，进入细胞质后与核糖体作用，为合成特定的蛋白质传递信息。在蛋白质的合成过程中，mRNA 依次揭示出 DNA 上三个碱基的互补序列，每个三联体称为一个密码子，每个密码子召集一个特定的氨基酸，这个氨基酸与下一个密码子编码的相邻氨基酸以共价形式连接。通过这种方式进行的**翻译**（**translation**）合成了一个多肽链，这个多肽链将经历蛋白质折叠和潜在的修饰，如添加一些糖类、磷酸盐或胆固醇基团。这样完成的蛋白质便可以行使其特定的功能，支持细胞的结构或功能特性。因此，表达不同蛋白质的一些细胞将具有不同的结构和功能特性，使它们成为一种独特的细胞类型。

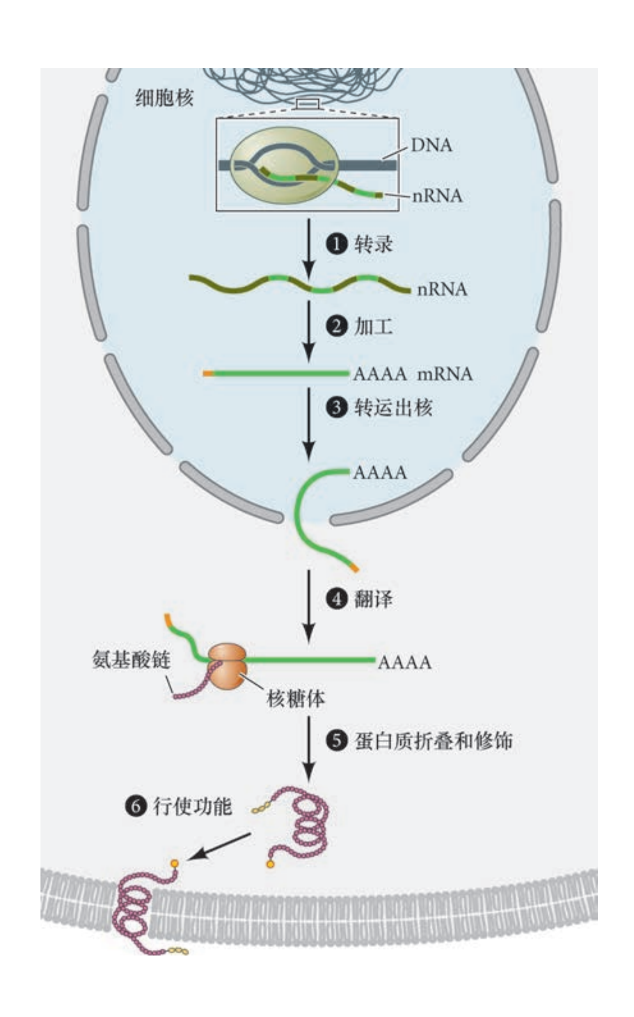


图 3.1 生物学的中心法则。基因和蛋白质表达过程中关键步骤的简要图示。①转录。在细胞核中，基因组 DNA 的一个区域对一个 RNA 聚合酶开放，这个转录酶将一个基因以单链核 RNA 分子的形式转录成准确的互补拷贝。这个基因可以说是被“表达”。②加工。核 RNA 经历加工后产生一个最终的信使 RNA 链。③加工后的 mRNA 被转运出核。④翻译。mRNA 与一个核糖体形成复合物，将其携带的信息翻译成一个有序的氨基酸聚合物。⑤蛋白质折叠和修饰。合成后的多肽通过正确的折叠和可能的修饰（如这里显示的多糖基团的添加）形成二级或三级结构。⑥行使功能。这个蛋白质现在可以说是被“表达”，并且开始行使特定的功能（如作为一个跨膜蛋白）。DNA：脱氧核糖核酸；nRNA：核核糖核酸；AAAA：多腺苷酸尾；mRNA：信使 RNA。

3.3 基因组均等性的证据

直到 20 世纪中期，基因组均等性并不像假设的那样（因为每个细胞都是受精卵的有丝分裂后代）有很多的支持证据。发育遗传学的首要任务之一就是确定一个生物的每个细胞中是否含有相同的**基因组**（**genome**），也就是说，一个细胞是否与其他所有细胞都具有相同的一套基因。

体内每个细胞都含有相同基因组的证据最初来自对果蝇染色体的研究，一些幼体组织中的 DNA 经历多轮的复制而不分离，以至于很容易观察到染色体的结构。这些**多线**（**polytene**，希腊语，“很多线”）**染色体**（**chromosome**）在不同细胞中没有结构上的差异；但是，染色体的一些区域在不同的细胞类型中和不同的时间内却“膨胀”起来，显示这些区域正在活跃地合成 RNA（**图 3.2A**；Beermann 1952）。当应用姬姆萨（Giemsa）染料在哺乳动物染色体中观察到同样的现象后，人们发现在大多数细胞中并没有染色体区域的丢失。这些观察结果后来被核酸原位杂交所证实，这是一个能够在胚胎中显示特定基因（mRNA）时空表达图式的技术（见图 3.35）。例如，*odd-skipped* 基因的 mRNA 在果蝇胚胎中表达在呈分节图式的细胞中，并且这个图式随时间的推移而发生变化（**图 3.2B**）。类似地，小鼠的 *odd-skipped* 同源基因，称为 *odd-skipped* 相关基因 -1，差异性地表达在一些结构的细胞中，如分节的鳃弓、肢芽和心脏（**图 3.2C**）。然而，在表达不同基因的生物细胞中，DNA 是否真正相同？它是否具有产生任何细胞的相同潜能？一个分化的细胞是否经历了不可逆的功能限制取决于它所含有的核能否产生身体所有其他分化细胞类型。如果每个体细胞的核都等同于合子的核，那么每个体细胞的核被移植到激活的去核卵中都应该有能力支持生物的正常发育。尽管早在 20 世纪 30 年代就有人提出这样的实验设想，但直到 1997 年克隆了“多莉”（Dolly）羊时，来自成体哺乳动物的细胞核能支持一个完整动物的发育才首次被证明。

维尔穆特（Ian Wilmut）及其同事把一个 6 岁的妊娠母羊的乳腺细胞取出后在体外培养（**图 3.3A**；

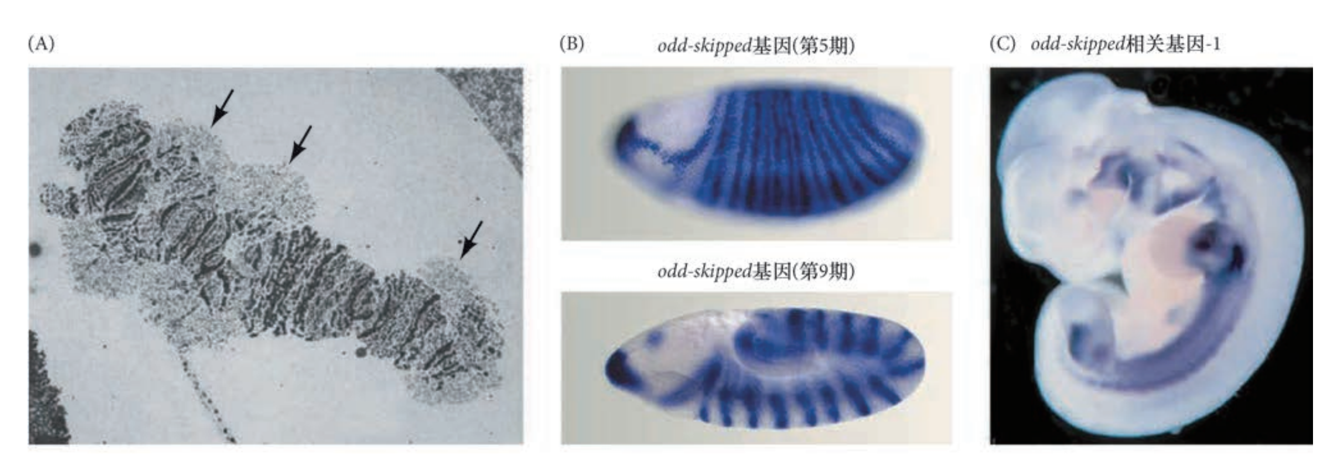


图 3.2 基因表达。(A) 摇蚊 (*Chironomus tentans*) 唾液腺细胞多线染色体的透射电镜图，显示了三个代表活跃转录区域的巨大“泡芙”（箭所示）。(B) 第 5 期和第 9 期果蝇胚胎中 *odd-skipped* 基因的 mRNA 表达（蓝色）。(C) 受精后 11.5 天小鼠胚胎中 *odd-skipped* 基因的 mRNA 表达（蓝色）(A 图来自 Daneholt，1975；B 图来自 Weiszmann et al. 2009；C 图来自 So and Danielian，1999)。

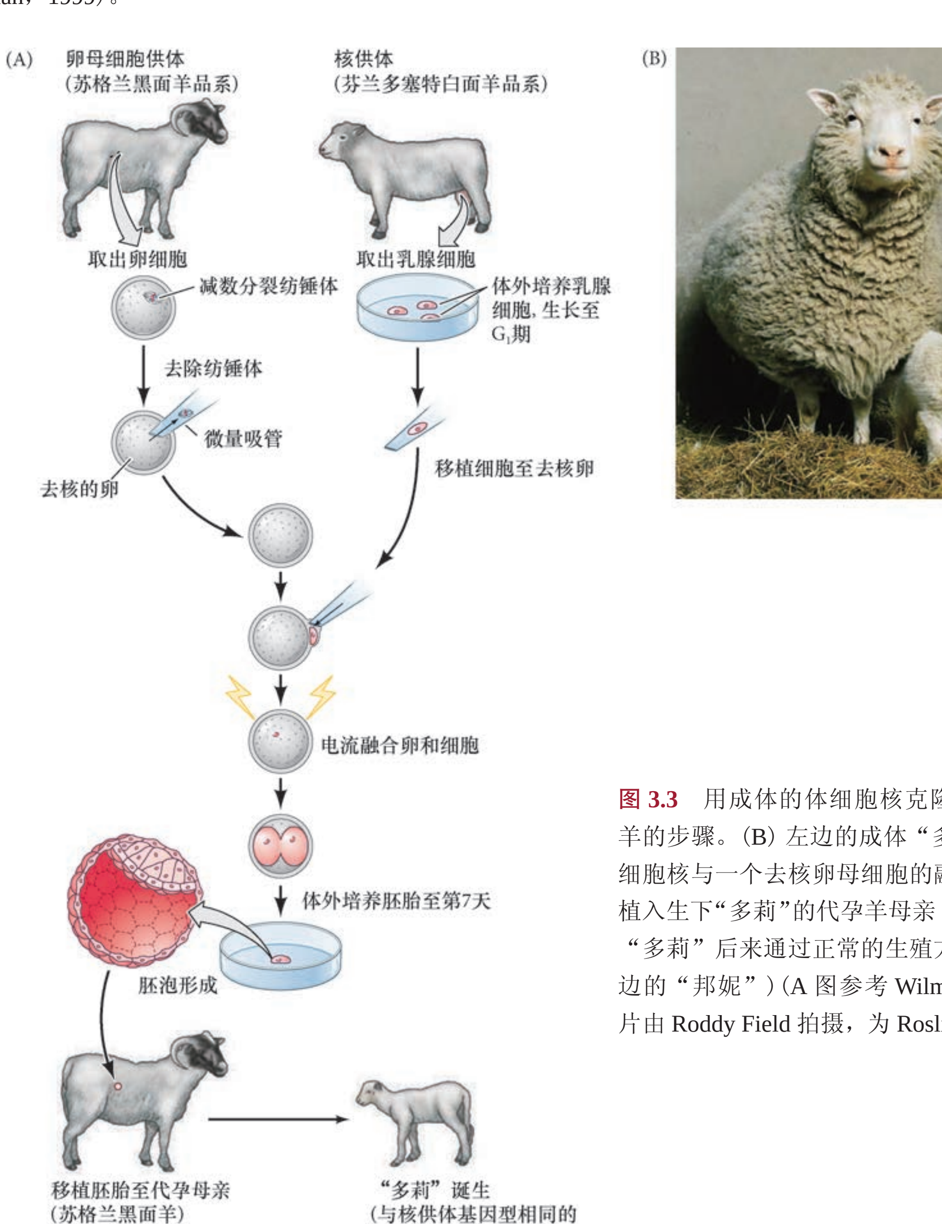


图 3.3 用成体的体细胞核克隆哺乳动物。(A) 克隆羊的步骤。(B) 左边的成体“多莉”羊来自一个乳腺细胞核与一个去核卵母细胞的融合，融合后的细胞被植入生下“多莉”的代孕羊母亲（一个不同的羊品种）。“多莉”后来通过正常的生殖方式生下一个小羊（右边的“邦妮”）(A 图参考 Wilmut et al. 2000；B 图照片由 Roddy Field 拍摄，为 Roslin Institute 版权所有)。

Wilmut et al. 1997)。他们所制备的培养液能使细胞核维持在细胞周期中的完整二倍体期（G_1），后来发现这个时期是很关键的。然后研究人员从一个不同品系的羊中获取卵母细胞，并将其核剔除。这些卵母细胞必须是处于第二次减数分裂的中期，因为它们通常是在这个时期被受精。将供体细胞与去核的卵母细胞放置在一起，给它们施加电脉冲以降低细胞膜的稳定性，使两个细胞融合。同时，这个电脉冲还能激活卵的发育。这样得到的胚胎最后被植入孕羊的子宫中使其继续发育。

在最初用于这个实验的 434 个羊卵母细胞中，只有一个活了下来，产生了“多莉”羊[1]（图 3.3B）。DNA 分析证实，“多莉”羊细胞的核的确来自用于获取供体核的羊品系（Ashworth et al. 1998；Signer et al. 1998）。成体哺乳动物的克隆已经在豚鼠、兔、大鼠、小鼠、狗、猫、马和奶牛中得到证实。在 2003 年，一个被克隆的骡子成为首个以这种方式生殖出来的不孕动物（Woods et al. 2003）。因此，看起来脊椎动物成体的体细胞核中含有产生一个成体生物所需的所有基因。对发育所必需的基因并没有在体细胞中丢失或突变；它们的核是均等的[2]。

网络话题 3.3 **2012 年诺贝尔生理学或医学奖：克隆与核均等性** 基因组均等性的最终“校样”是分化的体细胞核能产生身体的任何细胞类型被予以证明。

科学家讲座 3.1 维尔穆特爵士讨论克隆和细胞重编程。

3.4 调节基因的可及性

那么相同的基因组如何产生不同的细胞类型？为了解决这个问题，我们首先需要了解基因的解剖学结构。大多数真核生物基因与原核生物基因的一个根本差别是真核生物基因被 DNA 和蛋白质形成的一个复合物所包装，这个复合物称为**染色质**（**chromatin**）。蛋白质成分大约占染色质重量的一半，而且主要由**组蛋白**（**histone**）组成。**核小体**（**nucleosome**）是染色质结构的基本单元（图 3.4A，B）。这是一个由八聚体的组蛋白（两个分子的组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4）被含有大约 147 个碱基对的 DNA 环绕两圈后形成的结构（Kornberg and Thomas 1974）。组蛋白 H1 结合在核小体之间大约 60～80 个碱基对的“链接器”DNA 上（Weintraub 1984，1985）。DNA 与组蛋白之间有十几个接触点（Luger et al. 1997；Bartke et al. 2010），这能将长达 6 英尺（1 英尺相当于 30.48 cm）以上的 DNA 包装在直径大约是 6 μm 的人细胞核中（Schones and Zhao 2008）。

传统遗传学家把基因比作“串上的珠子”；而分子遗传学家把基因看成是“珠子上的串绳”，将核小体形象地比作珠子。在大部分时间，核小体看似被缠绕成一些称为**螺线管**（**solenoid**）的紧密结构，这些结构受到组蛋白 H1 的稳定（图 3.4C）。这种依赖于组蛋白 H1 的核小体构象将邻近的核小体包装在一起，形成紧密的阵列，阻止转录因子和 RNA 聚合酶与基因相接触，因此抑制体细胞中基因的转录（Thoma et al. 1979；Schlissel and Brown 1984）。致密包装的染色质区域称为**异染色质**（**heterochromatin**），而松散包装的区域称为**常染色质**（**euchromatin**）。实现差异性基因表达的一种方式就是调节染色质上特定区域的致密包装程度，以此来调节一些基因是否可以被转录。

---

[1] “多莉”羊的创造是科学和社会环境因素组合的结果。这包括工作保障、具有不同专长的人之间的相互接触、儿童在学校的假期、国际政治，以及酒吧里人们关心的问题。《第二创作》（Wilmut et al. 2000）这本书描述了创造“多莉”羊的复杂彼此联系，对于那些想了解现代科学是如何运作的人来说，这是一本必读的书。如维尔穆特所描述（第 36 页），“这个故事可能看起来有点凌乱，但那是因为生活就是凌乱的，科学只是生活的一部分”。

[2] 在克隆的动物中，尽管所有器官都完好地形成，很多克隆的动物随着成熟出现衰弱疾病（Humphreys et al. 2001；Jaenisch and Wilmut 2001；Kolata 2001）。我们马上就会看到，这个问题在很大程度上是由于合子与分化细胞的染色质之间存在甲基化差异。

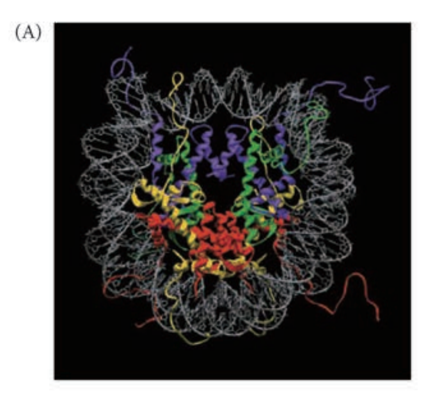
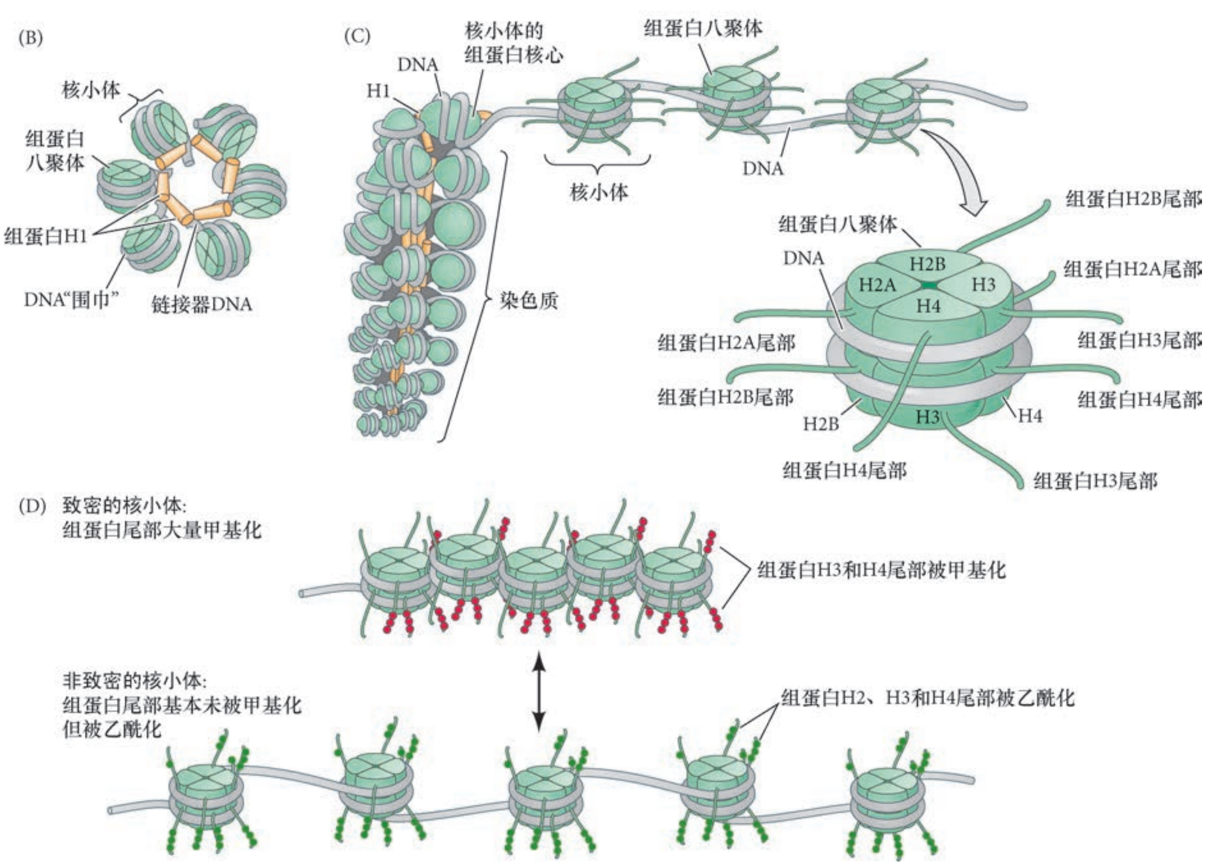


图 3.4 核小体与染色质结构。(A) X 射线晶体学在 1.9Å 分辨率时的核小体结构模型。组蛋白 H2A 和 H2B 分别用黄色和红色显示；组蛋白 H3 为紫色；组蛋白 H4 为绿色。DNA 螺旋（灰色）缠绕在蛋白质核心上。从这个核心延伸出的组蛋白尾部是乙酰化和甲基化的位点，乙酰化破坏而甲基化稳定核小体的组装。(B) 组蛋白 H1 能将核小体拉到一起，形成致密的状态。有大约 147 个 DNA 碱基对缠绕着每个组蛋白八聚体，60 ～ 80 个 DNA 碱基对将核小体连接起来。(C) 高度致密的螺线管染色质结构中核小体排列的模型。从核小体亚基上伸出的组蛋白尾部能够连接化学基团。(D) 甲基基团更牢固地致密核小体，阻止启动子位置的可及性，因此抑制基因转录。乙酰化使核小体的包装松散，将 DNA 暴露于 RNA 聚合酶 II 和激活基因的转录因子 (A 图参考 Davey et al. 2002)。



3.4.1 染色质的松解和致密：组蛋白作为门警

组蛋白在这里起关键作用，因为它们似乎既能促进也能阻止基因表达（图 3.4D）。抑制和激活在很大程度上受控于组蛋白 H3 和 H4 “尾部” 上两个小的有机基团的修饰：甲基 (CH_3) 和乙酰基 ($COCH_3$) 残基。通常，**组蛋白乙酰化** (**histone acetylation**)，即在组蛋白上添加带负电荷的乙酰基团，中和赖氨酸的正电荷，使组蛋白变得松散，这种情况能激活基因的转录。**组蛋白乙酰转移酶** (**histone acetyltransferase**) 将乙酰基团添加在组蛋白上（特别是添加在组蛋白 H3 和 H4 的赖氨酸上），使核小体不稳定，以至于很容易分开（变得更加常染色质化）。因此，去除乙酰基团的酶，称为**组蛋白脱乙酰酶** (**histone deacetylase**)，能稳定核小体（变得更加异染色质化）和阻止基因转录。

组蛋白甲基化 (**histone methylation**) 是将甲基基团添加到组蛋白上，催化这个反应的酶称为**组蛋白甲基转移酶** (**histone methyltransferase**)。尽管组蛋白甲基化在多数情况下导致异染色质状态和转录抑制，但在有些情况下它也能激活基因的转录，这取决于被甲基化的氨基酸和邻近的其他甲基或乙酰基团（见

Strahl and Allis 2000；Cosgrove et al. 2004）。例如，组蛋白 H3 和 H4 尾部的乙酰化随着组蛋白 H3 上第 4 位赖氨酸的三甲基化（也就是 H3K4me3；K 是赖氨酸的缩写）通常参与染色质的活跃转录。反之，组蛋白 H3 和 H4 尾部的乙酰化与组蛋白 H3 上第 9 位赖氨酸（H3K9）甲基化的同时缺失通常与高度抑制的染色质相关（Norma et al. 2001）。的确，在 H3K9、H3K27 和 H4K20 上的赖氨酸甲基化经常与高度抑制的染色质相关。**图 3.5** 描述了一个核小体和组蛋白尾部的赖氨酸残基。对这些残基的修饰能调节基因的转录。

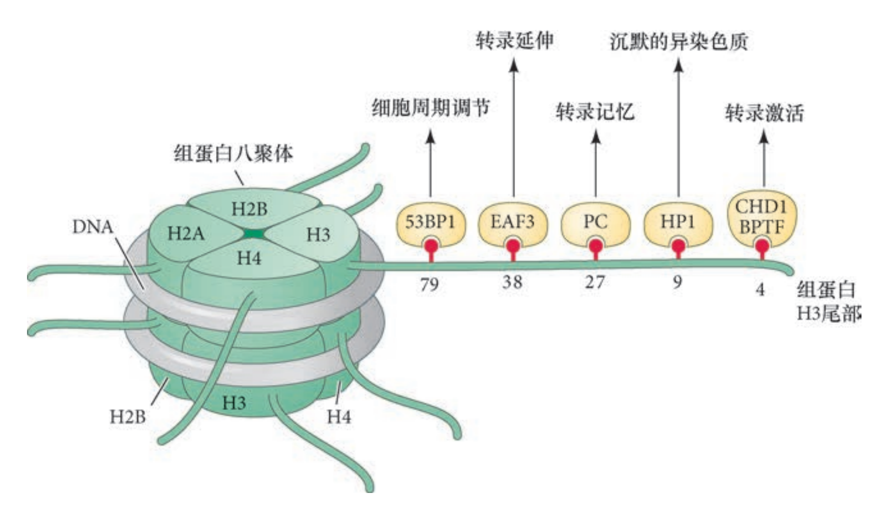


图 3.5　组蛋白 H3 的甲基化。组蛋白 H3 的尾部（蛋白质的开头，氨基末端序列）从核小体中延伸出来并能被甲基化或乙酰化。组蛋白 H3 的赖氨酸能被甲基化并被特定的蛋白质识别。第 4、38 和 79 位赖氨酸残基被甲基化后参与基因的激活，而第 9 和 27 位的甲基化赖氨酸参与基因的抑制。结合这些位点（未按比例示意）的一些蛋白质显示在甲基基团的上部。53BP1：p53 结合蛋白 -1；EAF3：Esa1 结合因子 -3；PC：多梳蛋白；HP1：异染色质蛋白 -1；CHD1：染色质域解旋酶 DNA 结合蛋白 -1；BPTF：布罗莫结构域和含植物同源异形域指的转录因子（参考 Kouzarides and Berger 2007）。

如果组蛋白上特定位置的甲基基团抑制转录，那么去除这些甲基基团应该使基因得以转录。已有证据证明一些同源异形基因的激活就是这样被调节的。同源异形基因属于一个基因家族，在前 - 后体轴方向上对赋予细胞各种特征有关键的作用。在早期发育中，同源异形基因被 H3K27 的三甲基化所抑制（组蛋白 H3 的第 27 位赖氨酸上有三个甲基基团：H3K27me3）。但在分化的细胞中，一个特异的 H3K27me3 脱甲基酶被招募到这些区域，去除这些甲基基团，使基因得以转录（Agger et al. 2007；Lan et al. 2007）。甲基化在调控基因转录中的作用是很广泛的。

3.4.2　甲基化记忆的维持

组蛋白的修饰也能发出招募蛋白质的信号，这些蛋白质能随着细胞的有丝分裂而代代相传地保留着对转录状态的记忆。它们属于**三胸蛋白**（**trithorax**）和**多梳蛋白**（**polycomb**）家族。三胸蛋白结合到有活跃基因的核小体上，维持这些基因的活跃状态；而多梳蛋白结合致密的核小体，将基因维持在一个抑制的状态。

多梳蛋白可以被分成两大类，顺序性地发挥抑制作用。第一类具有组蛋白甲基转移酶活性，使 H3K27 和 H3K9 的赖氨酸甲基化，抑制基因的活性。在很多生物中，这个抑制状态又被第二类多梳蛋白因子的活性所稳定，这一类多梳蛋白结合组蛋白 H3 的甲基化尾部，维持活跃的甲基化状态，同时也使邻近的核小体甲基化，因而形成致密包装的转录抑制复合物（Grossniklaus and Paro 2007；Margueron et al. 2009）。

三胸蛋白帮助保持对激活的记忆，抵御多梳蛋白的作用。三胸蛋白能修饰核小体或改变它们在染色质上的位置，使转录因子能够结合到之前被核小体覆盖的 DNA 上。其他三胸蛋白能保持 H3K4 的赖氨酸三甲基化，阻止它因为去甲基化而变成一个二甲基化的抑制状态（Tan et al. 2008）。

3.5　基因的解剖结构

到目前为止，我们介绍了通过组蛋白甲基化对基因可及性的调节能影响基因的表达。在这一章后面

的部分，我们将讨论 DNA 的甲基化直接调控转录这一令人振奋的研究。现在我们既然明确了组蛋白修饰能改变基因组区域的可及性，那么我们就可以问，有什么机制能更直接地影响基因的转录？更简单地说，一旦一个基因开放后，它如何被开启或关闭？在回答这个问题之前，我们需要对组成一个基因的部件和这些部件如何影响基因表达有一个基本的认识。

3.5.1 外显子和内含子

区分真核生物基因和原核生物基因的一个根本特征（除了真核生物基因是被包含在染色质中以外）是真核基因与其多肽产物呈非共线性。确切地说，真核生物 mRNA 的核酸单链来自染色体上不连续的区域。**外显子**（**exon**）是编码一个蛋白质的一些部分的 DNA 区域[3]。但在外显子之间有称为**内含子**（**intron**）的间插序列，它们与蛋白质上的氨基酸序列毫无关系。为了说明一个典型的真核基因的一些结构成分，我们在这里着重描述人 β- 珠蛋白基因的解剖结构（图 3.6）。这个基因编码红细胞中血红蛋白的一部分，具有以下元件：

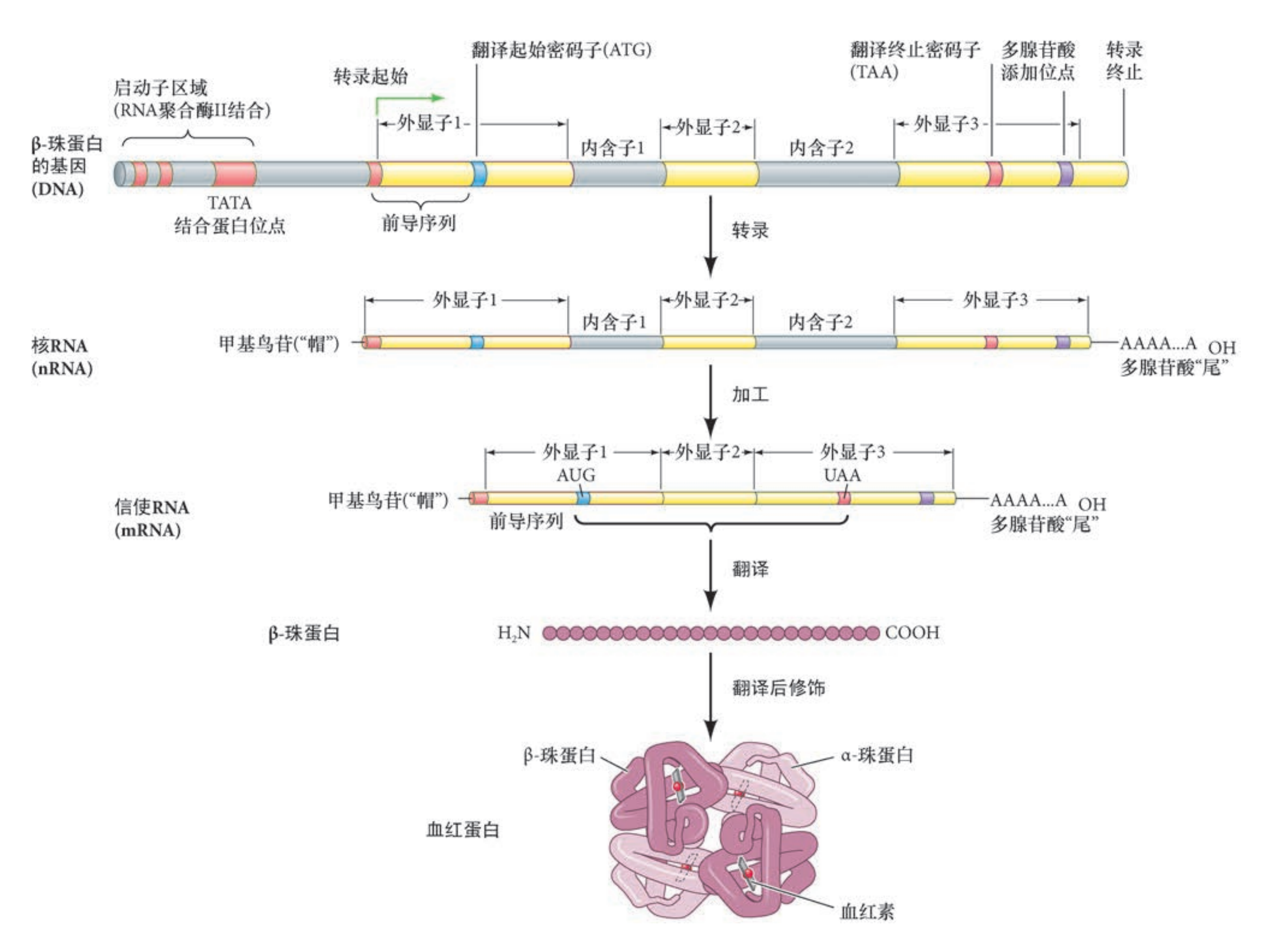


图 3.6 合成 β- 珠蛋白和血红蛋白的过程。β- 珠蛋白基因的转录产生一个核 RNA，含有外显子和内含子，以及帽、尾、5′ 和 3′ 非翻译区。这个核 RNA 在被加工成信使 RNA 时去除了内含子。在核糖体上的翻译需要这个 mRNA 为一个蛋白质进行编码。β- 蛋白是无活性的，直到它被修饰后，结合 α- 珠蛋白和血红素才变成有活性的血红蛋白（下部）。

---

[3] 外显子这个术语指的是一个 RNA 的核苷酸序列能从核中出去（"exit"）。它是对编码蛋白质的一个核苷酸序列的功能定义。前导序列和 3′ 非翻译区序列也来自外显子，即便是它们并不被翻译成蛋白质。

- **启动子区域**（**promoter region**），RNA 聚合酶 II 结合到这个区域后起始转录。人的 β- 珠蛋白基因的启动子区域有三个明显的单元，从转录起始位点前（“上游”）[4] 第 95 个碱基对延伸至第 26 个碱基对（即 –95 ～ –26）。一些启动子含有 TATA 的 DNA 序列（称为“TATA 框”），它结合基础或通用转录因子（TATA 结合蛋白，TBP），协助 RNA 聚合酶 II 在启动子上的锚定。
- **转录起始位点**（**transcription initiation site**），在人的 β- 珠蛋白基因中是 ACATTTG。这个位点经常被称为**帽序列**（**cap sequence**），因为它能使转录后不久的 RNA 在 5′ 端上添加一个修饰的核苷酸“帽”。这个特殊的帽序列在基因之间存在差别，它是第一个外显子的开始。
- **5′ 非翻译区**（**5′untranslated region，5′UTR**），也称为**前导序列**（**leader sequence**）。在人的 β- 珠蛋白基因中，它是间插在转录起始位点和翻译起始位点之间的 50 个碱基对。5′ 非翻译区能决定翻译起始的速度。
- **翻译起始位点 ATG**（**translation initiation site，ATG**）。在人的 β- 珠蛋白基因上，这个密码子（在 mRNA 中变成 AUG）位于转录起始位点的 50 个碱基对之后（这个距离在不同基因中存在很大的差别）。ATG 翻译起始序列在所有基因中都是相同的。
- 第一个外显子的蛋白质编码部分，含有 90 个碱基对，编码人 β- 珠蛋白的前 30 个氨基酸。
- 一个含有 130 个碱基对的内含子，不具有 β- 珠蛋白的编码序列。但是，这个内含子的结构对 RNA 被加工成 mRNA 及其转运出核是很重要的。
- 一个外显子，含有 222 个碱基对，编码 β- 珠蛋白的第 31 ～ 104 个氨基酸。
- 一个含有 850 个碱基对的大内含子，与 β- 珠蛋白的结构毫无关系。
- 一个含有 126 个碱基对的外显子，编码 β- 珠蛋白的第 105 ～ 146 个氨基酸。
- **翻译终止密码子 TAA**（**translation termination codon，TAA**）。这个密码子在 mRNA 中变成 UAA。当一个核糖体遇到这个密码子时，核糖体分离，蛋白质被释放出来。在其他基因中，翻译终止信号也可以是 TAG 或 TGA 密码子序列。
- **3′ 非翻译区**（**3′untranslated region，3′UTR**），尽管它也被转录，但并不被翻译成蛋白质。这个区域含有 AATAAA 序列，对**多腺苷酸化**（**polyadenylation**）是必需的。在 RNA 转录物上，大约在 AAUAAA 序列下游 20 个碱基的位置插入 200 ～ 300 个腺苷酸残基的尾巴。这个多腺苷酸尾有以下功能：①赋予 mRNA 稳定性；②使 mRNA 出核；③使 mRNA 能翻译成蛋白质。
- **转录终止序列**（**transcription termination sequence**）。转录进行到 AATAAA 位点之后大约 1000 个碱基处终止。

最初的转录产物称为**核 RNA**（**nuclear RNA，nRNA**），或者，有时称为核内不均一 RNA（hnRNA）或前信使 RNA（pre-mRNA）。核 RNA 含有帽序列、5′ 非翻译区、外显子、内含子和 3′ 非翻译区。这些转录物的两端在 RNA 离开核之前都受到修饰。一个甲基鸟苷帽以相反于 RNA 自身极性的方向被添加在 RNA 的 5′ 端，这意味着在核 RNA 上没有游离的 5′ 磷酸基团。5′ 帽结构对 mRNA 与核糖体的结合以及随后的翻译都是必需的（Shatkin 1976）。3′ 端通常是在核内通过添加多腺苷酸尾而被修饰。这个尾的腺苷酸残基是通过酶催化而被添加在转录物上的，所以它们并不属于基因序列的一部分。5′ 端和 3′ 端的修饰都能保护 mRNA 不被外切核酸酶降解（Sheiness and Darnell 1973；Gedamu and Dixon 1978）。因此，这些修饰能稳定信使 RNA 及其前体。

在核 RNA 离开核之前，内含子被去除，剩下的外显子被剪接在一起。通过这种方式，mRNA 的编码区域，也就是说那些外显子，被连在一起形成一个不间断的转录物，然后这个转录物被翻译成一个蛋白质，而蛋白质被进一步修饰后再行使功能（图 3.6）。

---

[4] 按照惯例，上游、下游、5′ 端和 3′ 端方向是根据 RNA 而定。因此，启动子是位于基因的上游，接近和处在它的 5′ 端之前。

3.5.2 顺式调控元件：一个基因的开、关和调光器

除了基因的蛋白质编码区域以外，还有一些位于基因两端（甚至是内部）的调控序列。这些包括启动子、增强子、沉默子，它们对控制一个特定基因的表达位置、表达时间和表达程度都是必要的。当这些调控序列与基因都处在同一条染色体时（通常也的确如此），就称它们为**顺式调控元件**（**cis-regulatory element**）[5]。

启动子（**promoter**）是 RNA 聚合酶 II 结合 DNA 序列以起始转录的一些位点。合成信使 RNA 的基因（即一些编码蛋白质的基因[6]）的启动子通常处在 RNA 聚合酶 II 的转录起始位点上游附近。大多数这样的启动子包含一段大约 1000 个富含 CG 序列的碱基对，通常称为 CpG，由一个胞嘧啶（**C**）和一个鸟嘧啶（**G**）被正常的磷酸键（**p**hosphate bond）链接（Down and Hubbard 2002；Deaton and Bird 2011）。这样的区域被称为 **CpG 岛**（**CpG island**）。一般认为转录起始于 CpG 岛附近的原因是由于**基础转录因子**（**basal transcription factor**）的作用，它们表达在所有细胞中并特异地结合 CpG 富含位点。这些基础转录因子形成一个"鞍状物"，可以招募和正确定位 RNA 聚合酶 II，以进行转录（Kostrewa et al. 2009）。

但是，RNA 聚合酶 II 并不同时结合基因组上的每个启动子。相反，它被称为**增强子**（**enhancer**）的 DNA 序列招募并稳定在启动子上。增强子指令一个启动子被启用的位置和时间，以及合成多少基因产物。换句话说，增强子控制一个特定启动子的转录效率和速度（见 Ong and Corces 2011）。相反地，称为**沉默子**（**silencer**）的 DNA 序列能阻止启动子的启用和抑制转录。**转录因子**（**transcription factor**）是一些通过精确识别序列结合在启动子、增强子或沉默子上的蛋白质。结合在增强子上的转录因子能通过两种方式激活一个基因：①招募一些能在这个区域拆散核小体的酶（如组蛋白乙酰转移酶）；②稳定转录起始复合物。因此，转录因子通常以两个互不排斥的方式行使功能：

1. 结合 DNA 后，转录因子能结合一些辅因子，这些辅因子进一步招募核小体修饰蛋白（如组蛋白甲基转移酶和乙酰转移酶），使这个区域的基因组被 RNA 聚合酶 II 结合，促进附近染色质的解旋和转录。
2. 转录因子能形成一些桥，使染色质成环，这样能将增强子上的转录因子（以及它们的组蛋白修饰酶）带到启动子附近。哺乳动物的 β- 珠蛋白基因被激活时，这种联结增强子和启动子的桥是由一些与增强子和启动子上的转录因子相结合的蛋白质所形成的。这些蛋白质招募一些核小体修饰酶和一些稳定 RNA 聚合酶 II 的转录相关因子（**图 3.7**；Gurdon 2016；Deng et al. 2012；Noordermeer and Duboule 2013）。

中介体复合物：连接增强子和启动子　在很多基因中，增强子和启动子之间的桥是由一个称为**中介体**（**mediator**）的巨大多体复合物所形成。这个中介体有接近 30 个蛋白质亚单元，将 RNA 聚合酶 II 连接到中转发育信号的增强子（Malik and Roeder 2010）。这个桥在启动子上形成**转录起始前复合物**（**pre-initiation complex**）。因此，中介体帮助形成一个染色质环，连接增强子和启动子。这个染色质环被**黏连蛋白**（**cohesin**）所稳定。在中介体被一些转录因子结合后，黏连蛋白与中介体相连，像一个圈一样缠绕染色质环的一部分（**图 3.8**）。

---

[5] 顺式和反式调控元件是通过类比大肠杆菌（*E. coli*）遗传学和有机化学而命名的。因此，顺式元件是一些位于相同染色体上的调控元件（*cis*-，"one the same side as"，"在相同的一边"），而反式元件是那些可由其他染色体提供的调控元件（*trans*-，"on the other side of"，"在其他一边"）。目前，顺式调控元件这个术语指的是那些在同一段 DNA 上调节一个基因的 DNA 序列（比如启动子和增强子）。反式调控元件是一些可溶性分子，能结合顺式调控元件，但它们的基因位于基因组的其他位置。它们通常是一些转录因子或微 RNA。也有一些证据显示，一个增强子有能力激活一个反式启动子（即位于另一条染色体上的一个启动子），但是那种情况是一些比较例外和罕见的事件（Noordermeer et al. 2011）。

[6] 对于一些编码蛋白质的基因来说，RNA 聚合酶 II 被用于转录。有几种不编码蛋白质的 RNA 类型，包括核糖体 RNA 和转移 RNA（用于蛋白质合成），以及一些小的核 RNA（用于 RNA 加工）。此外，还有一些调节性 RNA（如微 RNA 和长非编码 RNA，这将在本章的后部分讨论），它们参与调节基因的表达，但并不被翻译成多肽。这些调节性 RNA 通常被其他的 RNA 聚合酶转录。

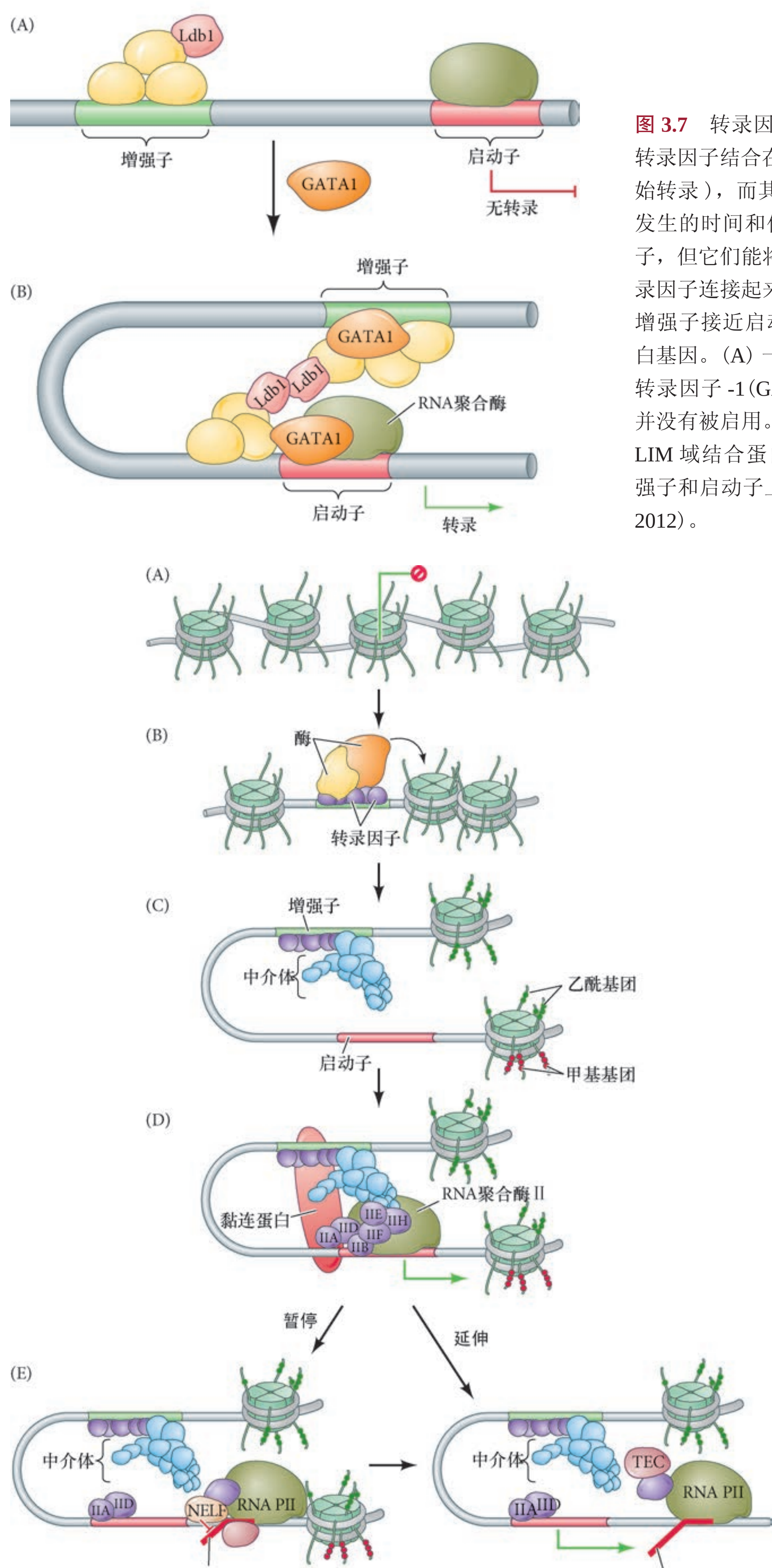


图 3.7　转录因子在增强子和启动子之间形成桥。一些转录因子结合在启动子上（RNA 聚合酶Ⅱ在这个位置起始转录），而其他转录因子结合在增强子上（调节转录发生的时间和位置）。还有一些不结合 DNA 的转录因子，但它们能将已经结合到增强子和启动子序列上的转录因子连接起来。以这种方式，染色质形成环结构，使增强子接近启动子。这里显示的例子是小鼠的 β- 珠蛋白基因。(A) 一些转录因子在增强子上组装，但在红系转录因子 -1(GATA1) 与启动子结合之前，这个启动子并没有被启用。(B) GATA1 能招募其他一些因子，包括 LIM 域结合蛋白 -1(Ldb1)，这个蛋白质能将结合在增强子和启动子上的一些因子连接起来（参考 Deng et al. 2012）。

图 3.8　中介体复合物对形成转录起始前复合物的作用。(A) 相对开放的染色质由 DNA 盘绕在核小体上组成。(B) 一些转录因子与增强子及一些核小体修饰酶相结合，核小体修饰酶在这个区域（包括增强子和启动子）去除核小体。(C) 这些转录因子也与称为中介体的巨大蛋白复合物结合。(D) 中介体能在启动子位点上招募和稳定 RNA 聚合酶Ⅱ (RNA PⅡ) 及其辅因子 TAF ⅡA，ⅡB(TATA 框结合蛋白联结因子ⅡA、ⅡB)。这些因子与 RNA 聚合酶Ⅱ结合后形成转录起始前复合物。染色质的环状结构被黏连蛋白进一步稳定。(E) RNA 聚合酶Ⅱ离开启动子后将会产生两种结果。一种结果（右图）是它与转录延伸复合物 (TEC) 结合，使核 RNA 延伸，而中介体继续把新的 RNA 聚合酶Ⅱ招募到这个复合物上；或者（左图），RNA 聚合酶Ⅱ受到一个阻止转录延伸复合物组装的转录抑制因子，即负延伸因子 (NELF) 的指令，停止延伸。当细胞接收到第二个发育信号时，NELF 被去除，转录继续进行（参考 Malik and Roeder 2010；Ohlsson 2010）。

尽管中介体可以帮助 RNA 聚合酶Ⅱ接近启动子，但要使转录得以进行，必须打破中介体与 RNA 聚合酶Ⅱ之间的连接，并且 RNA 聚合酶Ⅱ必须从启动子上释放下来。这是由**转录延伸复合物**（**transcription elongation complex**，**TEC**）来完成的，这个复合物由多个转录因子和酶组成（例如，Ikaros 蛋白、核小体重塑脱乙酰酶、正转录延伸因子 -b[7]；Bottardi et al. 2015）。RNA 聚合酶Ⅱ的释放伴随着转录物的加帽、聚合酶的磷酸化及转录物的延伸。但是在某些情况下（将在本章后部分讨论），RNA 聚合酶Ⅱ或者并不从中介体上释放下来，或者与中介体解离，但在暂停之前只转录一段短的核苷酸。在后一种情况下，一个**转录延伸阻抑物**（**transcription elongation suppressor**），如负延伸因子，阻止转录延伸复合物与聚合酶的结合，使 RNA 聚合酶Ⅱ暂停，准备接收一个新的发育信号。

增强子功能 鉴定增强子序列的主要方法之一就是克隆兴趣基因两侧的 DNA 序列，然后与报道基因融合。报道基因产物很容易被识别，并且通常在所研究的生物中不表达。研究人员把可能的增强子序列与报道基因融合后导入胚胎，然后检测报道基因的可视蛋白产物（如绿色荧光蛋白，GFP；图 3.9A）所呈现的空间和时间表达图式。如果被检测的序列含有增强子，报道基因将会在特定的时间和位置呈现活性。例如，大肠杆菌的 β- 半乳糖苷酶基因（*lacZ* 基因）可以被用来作为报道基因，与能在任何细胞中激活的启动子融合，或与只在小鼠肌细胞中启动一个特定基因（*Myf5*）表达的增强子融合。将这样一个转基因注射到一个刚受精的小鼠卵中，如果它整合到合子的基因组中，β- 半乳糖苷酶蛋白就能显示这个肌细胞特异基因的表达图式（图 3.9B）。最近，基因组技术，如染色质免疫沉淀及测序（将在本章的后部分讨论），使得研究人员能对特定转录因子结合的 DNA 区域进行测序，鉴别出增强子元件。

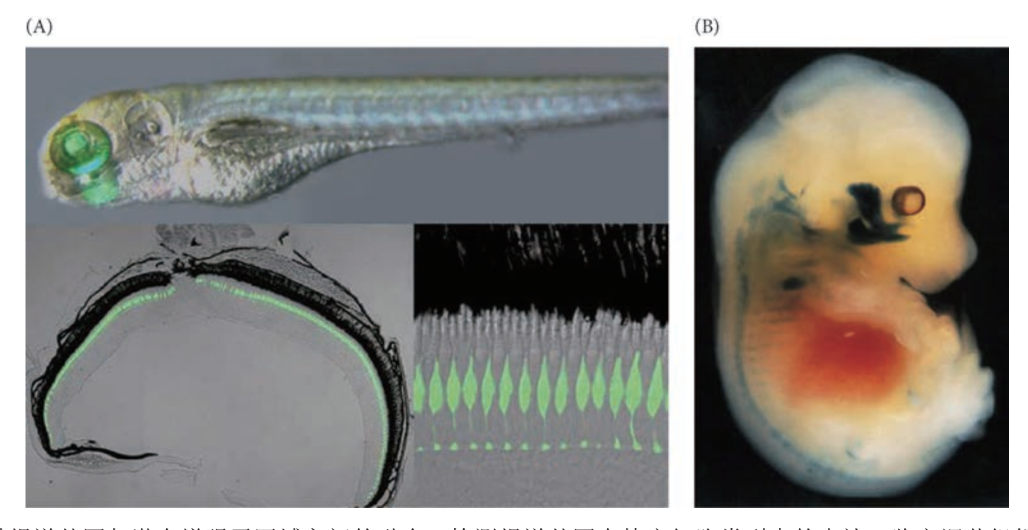


图 3.9 通过报道基因与潜在增强子区域之间的融合，检测报道基因在特定细胞类型中的表达，鉴定调节组织特异性转录的遗传元件。（A）绿色荧光蛋白基因与一个只在部分视网膜细胞有活性的斑马鱼基因融合。结果是绿色荧光蛋白表达在幼体的视网膜（左下图），准确地说是表达在视锥细胞（右下图）。（B）肌细胞特异蛋白（Myf5，成肌决定因子）的基因与 β- 半乳糖苷酶报道基因融合后被导入小鼠胚胎。染色检测 β- 半乳糖苷酶在第 13.5 天小鼠胚胎中的活性（着色深的区域），报道基因表达在眼、面部、颈部和前肢的肌细胞，以及分节的生肌节（将形成背部的肌肉组织）（A 图来自 Takechi et al. 2003，由 S. Kawamura，T. Hamaoka 和 M. Takechi 提供；B 图由 A. Patapoutian 和 B. Wold 提供）。

增强子通常只激活顺式连接的启动子（即在同一条染色体上），因此，它们有时被称为顺式调控元件。但是，由于 DNA 的折叠，增强子能在离启动子很远的距离（在有些情况下，可在 100 万碱基之外）调控基因（Visel et al. 2009）。并且，增强子并不一定是位于基因的 5′ 端（上游）；它们可以处在基因的 3′ 端，也可以被包含在内含子中（Maniatis et al. 1987）。我们将在第 19 章看到，有一个参与特化我们每个肢

[7] Ikaros 蛋白是一类结合核小体重塑脱乙酰酶的锌指转录因子，核小体重塑脱乙酰酶招募正转录延伸因子，形成一个打破转录暂停和促进核 RNA 延伸的复合物（Bottardi et al. 2015）。很有意思的是，结合在这个复合物上的蛋白质种类具有基因特异性。例如，表达高水平 Ikaros 蛋白的血液祖细胞分化成各种类型的白细胞，而表达低水平 Ikaros 蛋白的血液祖细胞主要分化成红细胞（Frances et al. 2011）。

上“小指”的基因，它的一个重要增强子位于另一个基因的内含子中，与其启动子有近 100 万个碱基对之隔（Lettice et al. 2008）。在每个细胞中，增强子与一些特定的转录因子相联结，结合核小体调节物和中介体复合物，并且与启动子协作，在这个特定类型的细胞中转录基因（**图 3.10A**）。

增强子模块化　DNA 上的增强子序列在每种细胞类型中都是相同的；所不同的是增强子所接触的一些转录因子蛋白的组合。与增强子结合后，转录因子能够增强或阻止 RNA 聚合酶 II 起始转录的能力。多个转录因子可以结合到一个增强子上，这些转录因子的特定组合使一个基因在一种特定类型的细胞中得以转录。也就是说，同一个转录因子，根据它与其他因子的不同组合，将会在不同的细胞中激活不同的启动子。而且，同一个基因也会有几个增强子，每个增强子结合一些使该基因在不同细胞类型中表达的转录因子。

小鼠的 *Pax6* 基因（表达在眼的晶状体、角膜、视网膜，神经管和胰腺）有多个增强子（**图 3.10B，C**）。含有 5′ 端旁侧序列和内含子的一些区域与 *lacZ* 报道基因的融合使人们发现了该基因的 5′ 端调控区域。这是将每个转基因显微注射到刚受精的小鼠原核，然后在得到的胚胎中检测 β- 半乳糖苷酶的活性而实现的（**图 3.10D**；Kammandel et al. 1998；Williams et al. 1998）。对这些结果的分析显示，启动子上游最远处的增强子含有 *Pax6* 在胰腺中表达所必需的一些区域，而第二个增强子在表面外胚层（晶状体、角膜和结膜）激活 *Pax6* 的表达。第三个增强子位于前导序列；它含有启动 *Pax6* 在神经管表达的序列。第四个增强子，位于翻译起始位点稍下游的一个内含子中，决定 *Pax6* 在视网膜中的表达。所以，*Pax6* 基因展示了增强子模块化的原则，一些具有多个独立增强子的基因能使一个蛋白质在几种不同的组织中表达，而完全不在其他组织中表达。

组合性联合　尽管增强子之间显示出模块化，但在一个增强子之内却存在着相互依赖的单元。增强子含有结合转录因子的 DNA 区域，一些转录因子的组合导致了基因的激活。例如，*Pax6* 基因的胰腺特异增强子具有 Pbx1 和 Meis 两个转录因子的结合位点（见图 3.10C）。两者需要同时存在才能使增强子在胰腺细胞中激活 *Pax6*（Zhang et al. 2006）。

Pax6 基因的产物编码一个转录因子，它与其他转录因子以组合式的伙伴关系行使功能。图 3.11 显示了结合 Pax6 的两个增强子区域。第一个是鸡 δ1- 晶体蛋白的基因（**图 3.11A**；Cvekl and Piatigorsky 1996；Muta et al. 2002）。这个基因编码晶体蛋白，是一个晶状体中透明的蛋白质，能使光到达视网膜。晶体蛋白基因的一个启动子含有 TATA 结合蛋白（TBP）和 Sp1 蛋白（两者都是将 RNA 聚合酶 II 招募到 DNA 的基础转录因子）的结合位点。这个基因在它的第三个内含子中也有一个增强子，控制基因表达的时间和位置。这个增强子具有两个 Pax6 结合位点。Pax6 蛋白与 Sox2 和 L-Maf 转录因子共同作用，只在头部那些将要变成晶状体的细胞中激活晶体蛋白的基因。我们将在第 16 章看到，这意味着：①细胞必须是头部外胚层（表达 Pax6）；②细胞必须位于形成眼的外胚层区域（表达 L-Maf）；③细胞必须与未来的视网膜细胞相接触（这些视网膜细胞在晶状体中诱导 Sox2 的表达；见 Kamachi et al. 1998）。

同时，Pax6 在胰腺中也调节编码胰岛素、胰高血糖素和生长抑素基因的转录（**图 3.11B**）。这时，Pax6 与其他转录因子协同作用，如 Pdx1（特异表达在内胚层的胰腺区域）和 Pbx1（Andersen et al. 1999；Hussain and Habener 1999）。所以，在缺失 Pax6 的情况下，眼不能形成，胰腺的内分泌细胞也不能正常发育；而这些没有正常发育的内分泌细胞产生低水平的激素（Sander et al. 1997；Zhang et al. 2002）。

Pax6 蛋白的结合还激活其他基因，其中就包括 *Pax6* 基因本身。Pax6 蛋白能结合到 *Pax6* 基因的一个顺式调控元件（Plaza et al. 1993）。所以，一旦 *Pax6* 基因被激活，它将持续表达，即使是它的初始激活信号已经不存在。

沉默子　沉默子（**silencer**）是活跃阻滞一个特定基因转录的 DNA 调控序列。它们可以被看成是“负增强子”，并且它们能在空间上（在一个特定细胞类型中）和时间上（在特定时间内）沉默基因的表达。例如，在小鼠中有一段 DNA 序列，能在除了神经元以外的任何组织中阻止一个启动子的激活。这个序列称为**神经限制性沉默子元件**（**neural restrictive silencer element，NRSE**），存在于多个局限在神

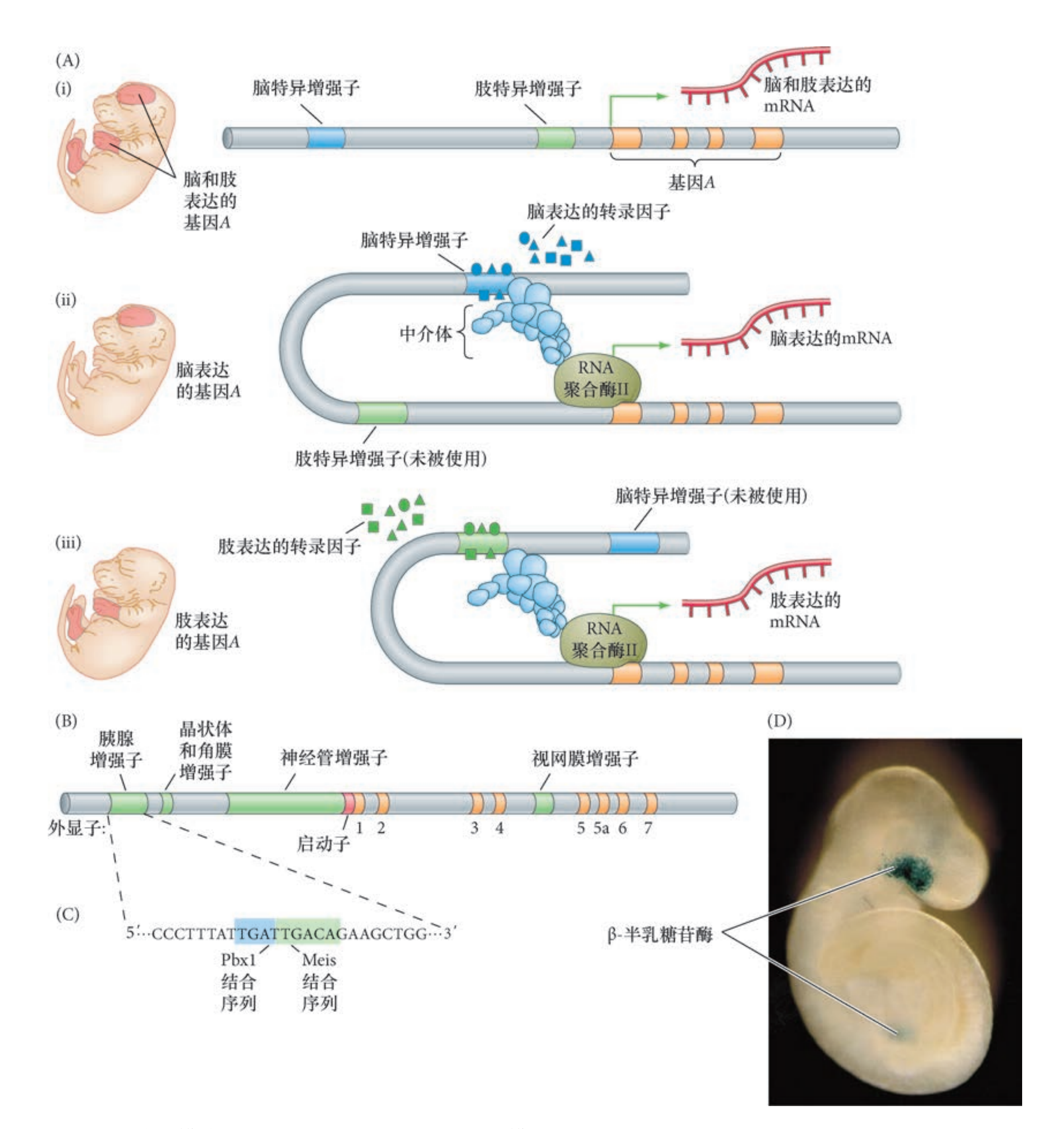


图 3.10 增强子区域的模块化。(A) 基因受增强子调节的模型。(i) 显示一个假定基因 *A* 的外显子、内含子、启动子和增强子。原位杂交（左图）显示基因 *A* 表达在肢和脑细胞。(ii) 在发育的脑细胞中，一些脑特异的转录因子与脑增强子结合后，使增强子结合中介体，在启动子上稳定 RNA 聚合酶 II，并在启动子区域修饰核小体。这个基因只在脑细胞中被转录；而肢的增强子不发挥功能。(iii) 一个类似的过程使相同的基因在肢的细胞中转录。在任何一种细胞中，如果增强子不能结合其中的转录因子，这个基因便不会被转录。(B) Pax6 蛋白对多种不同组织的发育起关键作用。不同的增强子启动 *Pax6* 基因的差异性表达（黄色的外显子 1～7)，这些组织包括胰腺、眼的晶状体和角膜、视网膜及神经管。(C) 一段胰腺特异增强子元件的 DNA 序列。这个序列含有 Pbx1 和 Meis 转录因子的结合位点；两者必须同时存在才能在胰腺中激活 *Pax6* 基因。(D) β- 半乳糖苷酶报道基因与启动 *Pax6* 基因在胰腺以及晶状体和角膜表达的增强子序列融合后，β- 半乳糖苷酶的活性在这些组织中都被检测出来（A 图参考 Visel et al. 2009；D 图来自 Williams et al. 1998，由 R. A. Lang 提供）。

拓展性问题

增强子模块化对于一个发育个体有什么影响？对于一个物种有什么影响？如果一个增强子出现一个突变会如何影响发育？例如，如果 *Pax6* 基因的增强子区域出现一个突变，会在胚胎中发生什么？那样一个突变会产生进化上的重要性吗？**提示：**会，并且是巨大的！

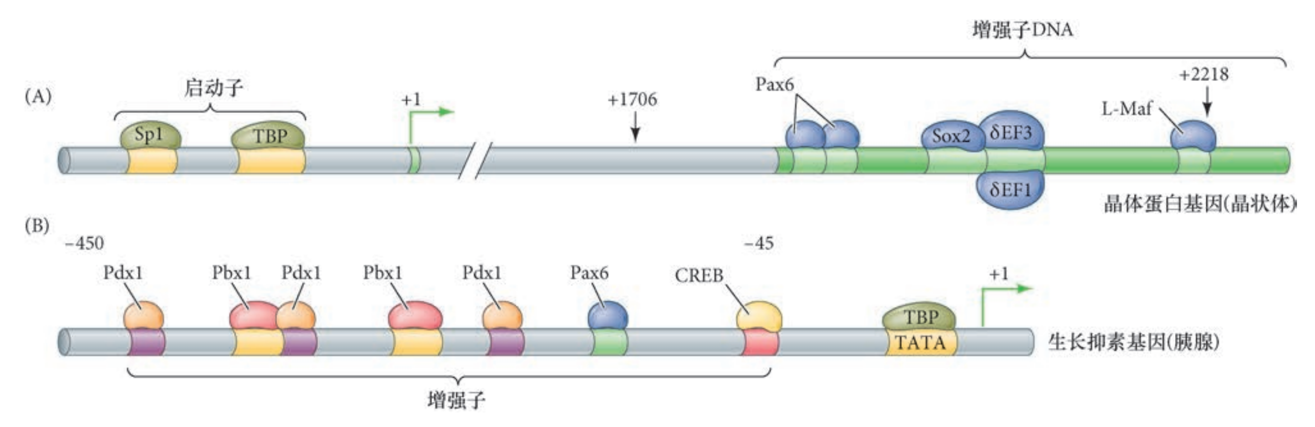
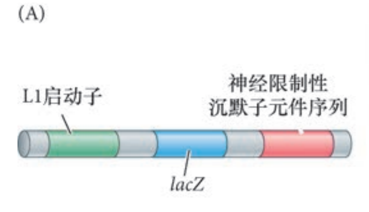


图 3.11　以 Pax6 为激活物的模块转录调控区域。(A) 鸡 δ1- 晶体蛋白基因的启动子和增强子。Pax6 与另外两个转录因子（Sox2 和 L-Maf）相互作用，激活这个基因。δEF3（延伸因子）结合一些促使相互作用的因子，而 δEF1 结合一些抑制相互作用的因子。(B) 大鼠生长抑素基因的启动子和增强子。Pax6 与 Pdx1 和 Pbx1 转录因子协同激活这个基因。Sp1：Sp1 基础转录因子；TBP：TATA 结合蛋白；CREB：环腺苷酸应答元件结合蛋白（A 图参考 Cvekl and Piatigorsky 1996；B 图参考 Andersen et al. 1999）。

经系统表达的小鼠基因，如突触蛋白 I、II 型钠通道、脑源性神经营养因子、神经胶质细胞黏附分子及 L1 蛋白的基因。结合神经限制性沉默子元件的蛋白质是一个转录因子，称为**神经限制性沉默因子**（**neural restrictive silencer factor**，**NRSF**，有时称为 **REST**）。NRSF 表达在除了成熟神经元以外的所有细胞（Chong et al. 1995；Schoenherr and Anderson 1995）。当 NRSE 在一些特定的神经基因中被删除后，这些基因便在非神经细胞中表达（图 3.12；Kallunki et al. 1995，1997）。

近来发现的“时间沉默子”可能对调节人的珠蛋白基因起一定作用。在多数的人胎儿中，从大约 12 周直到出生，一个胎儿珠蛋白的基因一直处在激活状态。在出生前后，胎儿珠蛋白的基因被关闭，而成体珠蛋白的基因被激活。但是一些家族却显示出胎儿血红蛋白的遗传持续，胎儿珠蛋白的基因在成体也保持活跃状态。在其中一部分这样的家族中，有一个 DNA 区域发生了一个突变，而这个区域通常在出生时参与沉默胎儿珠蛋白的基因。在多数人中，这个沉默子含有结合红系转录因子 GATA1 和 BCL11A 转录因子的位点，这两个转录因子在 DNA 上的组合招募组蛋白修饰酶。这个作用导致脱乙酰化和抑制性（含 H3K27me3）核小体的形成（Sankaran et al. 2011）。





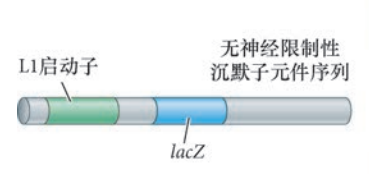




图 3.12　沉默子阻抑基因转录。(A) 表达一个转基因的小鼠胚胎。这个转基因含有 L1 启动子（神经元特异的一段 *L1* 基因），以及与 *L1* 基因第二个外显子（含神经限制性沉默子元件序列）融合的 β- 半乳糖苷酶（*LacZ*）基因。(B) 同时期的小鼠胚胎表达类似的转基因，但缺失神经限制性沉默子元件的序列。暗色的区域显示 β- 半乳糖苷酶（*LacZ* 基因产物）活性（照片来自 Kallunki et al. 1997）。

基因调控元件总结　增强子和沉默子能使编码特定蛋白质的一些基因通过各种组合的许多转录因子来控制它们的表达。因此，增强子和沉默子都是模块化的。举个例子，*Pax6* 基因受一些增强子的调控，使得它能在眼、胰腺、神经系统中表达，如图 3.10B 所示，这就是布尔“或”函数（即两个以上的输入，只要一个输入中出现了真，输出就是真）。但是，在每个顺式调控模块内，一些转录因子以协同的方式起

作用，以至于 Pax6、L-Maf 和 Sox2 蛋白对晶体蛋白的基因在晶状体中的转录都是必要的（见图 3.11A），那就是布尔“与”函数（即两个以上的输入，第一个、第二个和第三个输入等都是真，它的输出才能是真）。转录因子在增强子上的组合性联合能引起任何一个特定基因在时空上的输出（见 Peter and Davidson 2015；Zinzen et al. 2009）。这个函数中的“与”在同时激活一整套基因时可能非常重要。

3.5.3 转录因子功能

家族以及其他关联 科技记者 Natalie Angier(1992) 曾说：“一系列的新发现暗示 DNA 更像某种类型的政客，被一群蛋白质操作者和顾问们围着，必须用力推拿它、捻弄它，并且有的时候，在身体的宏伟蓝图还不具备任何意义之前就去彻底改造它”。这些“操作者和顾问”就是一些转录因子。在发育过程中，转录因子在胚胎发生的各个方面都起重要作用；如果出了问题，这通常是转录因子的过错。同样，一些政客们也经常会有这样的感想。

基于 DNA 结合域的类似性，转录因子可以被归类为一些家族（**表 3.1**）。在每个家族中，转录因子的 DNA 结合域都具有共同的结构，而且一些细微的氨基酸差别能使这个结合域识别不同的 DNA 序列。

表 3.1 主要的转录因子家族和亚家族

家族	代表性转录因子	部分功能
同源异形域		
同源异形框	Hoxa1、Hoxb2 等	体轴形成
POU 结构域	垂体特异转录因子、Unc-86、Oct-2 蛋白	脑垂体发育；神经命运
Lim 结构域	Lim1、叉头框蛋白	头部发育
配对框结构域	Pax1、Pax2、Pax3、Pax6 等	神经特化；眼发育
碱性螺旋 - 环 - 螺旋结构域（bHLH）	肌细胞分化因子、小眼畸形相关转录因子、无女蛋白	肌细胞和神经特化；果蝇性别决定；色素形成
碱性亮氨酸拉链结构域	CCAAT 增强子结合蛋白、转录激活蛋白 -1、小眼畸形相关转录因子	肝分化；脂肪细胞特化
锌指状结构域		
常规结构域	维尔姆斯瘤蛋白 -1、Krüppel、Engrailed	肾、生殖腺、巨噬细胞发育；果蝇分节
核激素受体	糖皮质激素受体、雌激素受体、睾酮受体、视黄酸受体	第二性别决定；颅面发育；肢发育
Sry-Sox 结构域	Sry、SoxD、Sox2	DNA 弯曲；哺乳动物初级性别决定；外胚层分化

我们已经了解，像增强子和沉默子这些 DNA 调控元件，它们通过结合转录因子而发挥作用，并且每个元件具有多个转录因子的结合位点。转录因子通过蛋白质上的一个位点与调控元件的 DNA 序列结合，而通过其他一些位点与另外的转录因子结合后招募组蛋白修饰酶。例如，Pax6、Sox2、L-Maf 这三个转录因子在晶状体细胞中联合招募组蛋白乙酰转移酶，将一些乙酰基团转移到组蛋白上，使核小体在转录因子结合的区域分离（Yang et al. 2006）。类似地，小眼畸形相关转录因子（MITF）[8]——一个对耳发育和色素形成有重要作用的转录因子，当它与特异的 DNA 序列结合时，也能再结合一个不同的组蛋白乙酰转移酶，促进核小体的分离（Ogryzko et al. 1996；Price et al. 1998）。另外，在肌前体细胞中激活一些肌细胞特异基因表达的 Pax7 转录因子能结合这些基因的增强子区域。然后，Pax7 招募一个组蛋白甲基转移酶，使组蛋白 H3 的第四位赖氨酸（H3K4）甲基化，导致这个赖氨酸的三甲基化并且激活基因的转录（McKinnell et al. 2008）。核小体沿 DNA 的位移使其他转录因子能够找到它们的结合位点，以调节基因的表达（Adkins et al. 2004；Li et al. 2007）。

除了招募组蛋白修饰酶以外，转录因子也能稳定转录起始前复合物，使 RNA 聚合酶 II 与启动子结合

[8] MITF 代表 microphthalmia-associated transcription factor（小眼畸形相关转录因子）。

（见图 3.7 和图 3.8）。例如，肌细胞分化因子（MyoD）是一个对肌细胞发育有重要作用的转录因子，能稳定 TATA 结合蛋白联结因子 IIB（TAFIIB），而这个因子在启动子上维持 RNA 聚合酶Ⅱ（Heller and Bengal 1998）。的确，肌细胞分化因子在激活基因的表达中起多种作用，因为它也能结合一些起始核小体重塑和解离的组蛋白乙酰转移酶（Cao et al. 2006）。

转录因子组合性联合的一个重要结果就是**协调性基因表达**（**coordinated gene expression**）。许多细胞特异性基因的同时表达是因为一些增强子结合了一些转录因子。例如，在晶状体中特异激活的很多基因都含有一个结合 Pax6 的增强子。同样，所有其他的转录因子也可能在启动子上组装，但在 Pax6 结合之前，它们并不能激活基因的表达。类似地，很多共同表达的肌细胞特异基因都含有一些结合肌细胞增强因子 -2（Mef2，一个转录因子）的增强子，一些色素形成酶基因的增强子都能结合小眼畸形相关转录因子（见 Davidson 2006）。在某些情况下，可能是所有的转录因子共同启动一些基因的同时转录。例如，Junion 及其同事证明，一个由 5 个转录因子形成的组合能在发育的果蝇心肌细胞中结合几百个处于活跃状态的增强子（Junion et al. 2012）。

转录因子结构域　转录因子具有三个主要的结构域。第一个是 **DNA 结合域**（**DNA-binding domain**），识别增强子上特定的 DNA 序列。有几种不同类型的 DNA 结合域，以此将转录因子分类为几个主要的家族。一些最常见的 DNA 结合域包括同源异形域、锌指状结构域、亮氨酸拉链结构域、螺旋 - 环 - 螺旋结构域、螺旋 - 转角 - 螺旋结构域（见表 3.1）。例如，Pax6 同源异形域转录因子[9] 用它的一对 DNA 结合位点识别一个增强子序列 CAATTAGTCACGCTTGA（Askan and Goding 1998；Wolf et al. 2009）。相反，参与耳和色素细胞发育的小眼畸形相关转录因子含有亮氨酸拉链和螺旋 - 环 - 螺旋两个结构域，识别称为 E 框（E-box，CACGTG）和 M 框（M-box，CATGTG）[10] 的短 DNA 序列（Pogenberg et al. 2012）。一些编码色素细胞特异酶的基因上具有小眼畸形相关转录因子的结合序列（Bentley et al. 1994；Yasumoto et al. 1994，1997）。这些酶属于酪氨酸酶家族成员，在缺失小眼畸形相关转录因子的情况下，它们不能正常合成，细胞不能产生黑色素。

第二个区域是**反式激活域**（***trans*-activating domain**），当转录因子与一个基因的启动子或增强子结合时，它激活或抑制该基因的转录。通常，这个反式激活域能使转录因子与一些结合 RNA 聚合酶Ⅱ的蛋白质相作用，如 TATA 结合蛋白联结因子 IIB 或 IIE（见 Sauer et al. 1995）；或使转录因子与修饰组蛋白的酶相作用。小眼畸形相关转录因子的中央就含有这样一个氨基酸区域，当它的二聚体与增强子上的靶序列结合时，反式激活域便能结合一个称为 p300/CBP 的转录相关因子（TAF）。p300/CBP 蛋白是一个组蛋白乙酰转移酶，能将乙酰基团转移到核小体的每个组蛋白（Ogryzko et al. 1996；Price et al. 1998）。核小体被乙酰化后变得不稳定，这使编码色素形成酶的基因得以表达。

最后，转录因子上通常有一个**蛋白质相互作用域**（**protein-protein interaction domain**）。这个区域能使转录因子的活性受到 TATA 结合蛋白联结因子或其他转录因子的调节。小眼畸形相关转录因子具有一个蛋白相互作用域，能使它与另一个同样的因子形成二聚体（Ferré-D′Amaré et al. 1993）。这样产生的同源二聚体（两个一样的分子结合在一起）是一个有功能的蛋白质，能结合一些基因的增强子 DNA 并激活这些基因的转录（**图 3.13**）。

绝缘子　基因表达边界的建立似乎受称为**绝缘子**（**insulator**）的 DNA 序列调节。绝缘子序列限制增强子激活基因表达的范围。因此，它们使一个启动子“绝缘”，不被另一个基因的增强子激活。一些绝缘子 DNA 区域能结合称为 CCCTC 结合因子（CTCF）[11] 的锌指转录因子，这个因子能改变染色质的三维

---

[9] Pax 代表 “Paired box”（“配对框”），而“box”（“框”）指的是它的 DNA 结合域。配对框蛋白是一些同源异形域转录因子，含有一个结合 DNA 的配对域。在果蝇中的研究显示，缺失一个同源异形域转录因子会引起一些结构出现严重的同源异形转变，如触角转变成腿。

[10] E-box 和 M-box 分别指的是 “Enhancer”（“增强子”）和“Myc”（致癌基因），其中的“box”（“框”）指的是蛋白质结合位点。

[11] CTCF 代表 CC**CTC**-binding **F**actor（CCCTC 结合因子）。尽管我们强调它起一个绝缘因子的作用，CTCF 也能参与形成染色质结构，并且在某些情况下能使增强子与启动子相接触而激活转录（见 Kim and Kaang 2015）。

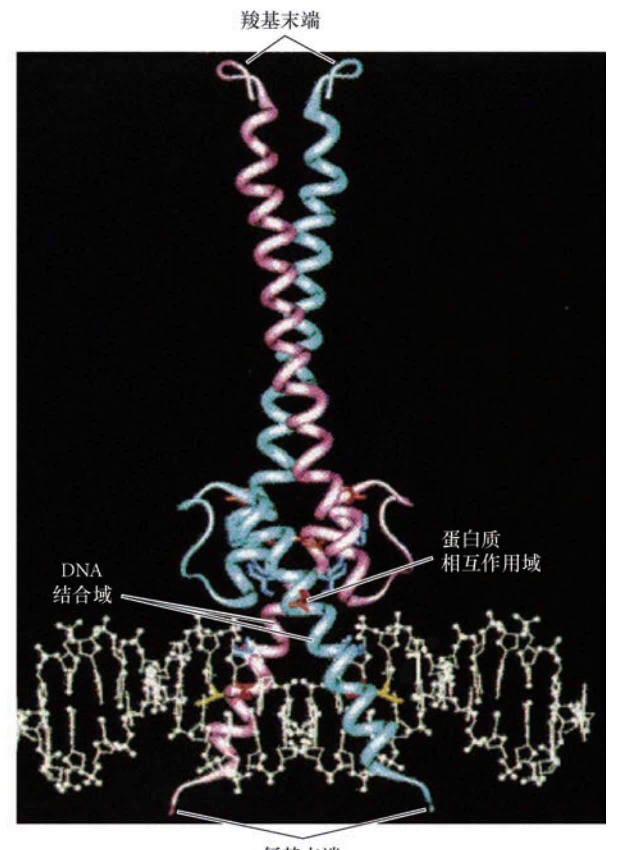


图 3.13 小眼畸形相关转录因子同源二聚体（一个蛋白质用红色显示，另一个用蓝色显示）在 DNA 上结合一个启动子元件（白色）的三维模型。氨基末端位于图的下部，形成 DNA 结合域，识别含有 CATGTG 核心序列的一段 11 个碱基对 DNA 序列。蛋白相互作用域紧位于其上。小眼畸形相关转录因子含有碱性螺旋 - 环 - 螺旋结构，这个结构存在于很多转录因子中。蛋白质的羧基端被认为是顺式激活域，结合 p300/CBP 转录相关因子（TAF）（来自 Steingrímsson et al. 1994，由 N. Jenkins 提供）。

拓展性问题

在发育的胚胎中，转录因子与顺式调控元件的精确结合驱动时空上的差异性基因表达。一个细胞的特征是在一个转录因子复合物与一个调控元件相结合，使一个基因表达时被决定的吗？需要有多少基因才能建立一个特定的细胞命运？

构象，因此将增强子元件与启动子隔离或绝缘（Yusufzai et al. 2004；Kim and Kaang 2015）。CTCF 在真核生物中泛表达，已经记录到它在基因组上有数以万计的结合位点（Chen et al. 2012）。在机制上，CTCF 与黏连蛋白有物理相互作用，而黏连蛋白是由多重亚基组成的一个环形复合物，能稳定染色质环结构（见对中介体复合物的描述）。有假说认为 CTCF 用它的 11 个锌指状结构域选择性地结合 DNA，通常是绝缘子元件，产生一些环状结构使增强子远离启动子。例如，鸡 β- 珠蛋白的基因能与黏连蛋白形成一个复合物（Wendt et al. 2008；Wood et al. 2010）。CTCF 与黏连蛋白形成的复合物与绑定在增强子上的中介体结合后，阻止增强子激活邻近的启动子。

先锋转录因子：打破沉默 并不是那么容易就能找到一个增强子，因为 DNA 通常处在一个紧密缠绕的状态，以至于很难接触到增强子。增强子有可能被一些核小体覆盖，那么一个转录因子如何找到它的结合位点？一些转录因子能穿入被抑制的染色质，进而结合增强子 DNA 序列（Cirillo et al. 2002；Berkes et al. 2004）。它们被称为“先锋”转录因子，可能对一些细胞谱系的建立起关键作用。其中一个这样的转录因子就是叉头框蛋白 -A1（FoxA1），它结合一些增强子，将染色质开放，使其他转录因子能接触到启动子（Lupien et al. 2008；Smale 2010）。FoxA1 对肝细胞的特化非常重要，它在有丝分裂过程中一直结合在 DNA 上，为恢复预定肝细胞中的正常转录提供一个机制（Zaret et al. 2008）。另一个先锋转录因子是上述的 Pax7 蛋白，它能在一组肌干细胞中激活肌细胞特异基因的转录。Pax7 与它的 DNA 识别序列结合后，被核小体上二甲基化的 H3K4 所稳定，然后，Pax7 招募组蛋白甲基转移酶，将二甲基化的 H3K4 转变成与活跃转录相关的三甲基化 H3K4（McKinnell et al. 2008）。

主调节转录因子 “主调节物”这个说法被用来形容一些转录因子，它们看似具有控制细胞分化的能力，但一个转录因子是否真正能够将一个祖细胞引导向一个特定的成熟途径，或更进一步，改变一种分化细胞的命运？作为**主调节物**（**master regulator**），一个转录因子必须满足以下条件：①在一种细胞类型特化的初期表达；②调节这种细胞类型特异的基因表达；③能将一个细胞的命运指引向这种细胞类型

(Chan and Kyba 2013)。

主调节能力的早期证据来自一些独创的克隆实验，Briggs 和 King(1952)、格登 (John Gurdon，1962) 曾使幼体蛙的成纤维细胞核或肠细胞核重编程。他们用终末分化细胞（成纤维细胞或肠细胞）的核替代蛙卵的核，最后这个卵竟然发育成一个正常的蛙。这些实验首次为核均等性提供了重要的支持（后来被“多莉”羊的克隆进一步证明），但它们并不能证明卵细胞质中哪些蛋白质在重编程中起作用。直到 2006 年人们才有了一些线索，山中伸弥 (Shinya Yamanaka) 选择了一组能将小鼠的早期胚胎细胞维持在一个未成熟状态的基因，这些未成熟状态的细胞来自囊胚的内细胞团（将在本章的后部分描述）。山中伸弥实验室的研究人员在分化的小鼠成纤维细胞中只表达了其中四个这样的基因 (*Oct3/4*、*Sox2*、*c-Myc* 和 *Klf4*)，他们发现这些成纤维细胞经历了去分化，变成了内细胞团样的细胞（图 3.14；Takahashi and Yamanaka 2006）。这四个基因都编码一些转录因子，使它们成为主调节物的最佳候选者。后来证明那些去分化的细胞能够产生胚胎的任何细胞类型。这意味着它们具有多能干细胞的作用。由于它们是被诱导而变成了这种状态，所以被称为**诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cell，iPSC)**。山中伸弥和格登因为他们的发现共享了 2012 年的诺贝尔生理学或医学奖。目前，诱导多能干细胞也以前所未有的方式被用于研究人的发育和疾病（在第 5 章进一步讨论）。

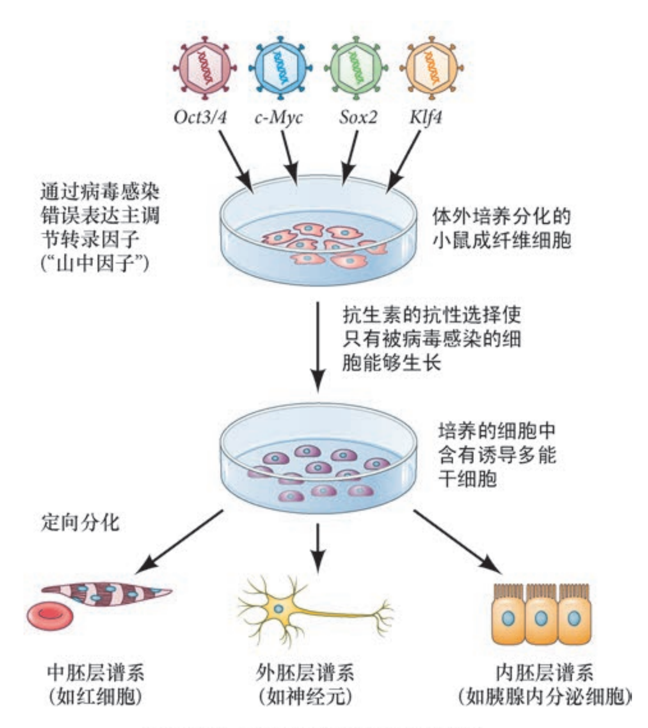


图 3.14　从分化的成纤维细胞到诱导多能干细胞。如果将“山中因子”(Yamanaka factors)，即 Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 转录因子，通过病毒在分化的成纤维细胞中表达，这些细胞将经历去分化而变成诱导多能干细胞 (iPSC)。像胚胎干细胞一样，诱导多能干细胞能产生所有三个胚层（中胚层、外胚层、内胚层）的后代。

科学家讲座 3.2　一个细胞重编程的发育专题片。

科学家讲座 3.3　Derrick Rossi 博士关于用 mRNA 产生诱导多能干细胞的问答会。

潜在性主调节物的另一个例子来自 Doug Melton 实验室，他们检测了是否有特定的转录因子能将患糖尿病小鼠的胰腺细胞转变成产生胰岛素的 β 细胞。研究人员用携带编码三个转录因子的基因 (*Pdx1*、*Ngn3*、*MafA*) 的无害病毒感染胰腺细胞（图 3.15；Zhou et al. 2008；Cavelti-Weder et al. 2014；Melton 2016）。在早期发育过程中，Pdx1 蛋白刺激消化管外向生长而产生胰芽。这个转录因子表达在所有的胰腺细胞中，对特化这个器官的内分泌（分泌激素）细胞和激活编码内分泌蛋白的基因起关键作用。Ngn3 是一个表达在内分泌细胞中的转录因子，在外分泌（分泌消化酶）细胞中不表达。MafA 是一个受葡萄糖水平调节的转录因子，它只表达在分泌胰岛素的 β 细胞中，并且激活胰岛素基因的转录。在正常发育过程中，Pdx1、Ngn3、MafA 激活其他一些转录因子，然后这些转录因子共同作用，使一个胰腺内胚层细胞分化成一个产生胰岛素的 β 细胞。通过实验方法在患糖尿病小鼠的胰腺细胞中诱导这三个转录因子的表达，研究人员发现，一些不分泌胰岛素的细胞被转变成为分泌胰岛素的 β 细胞。这些被转变的细胞看起来与正常的胰岛 β 细胞一样，并且治愈了患糖尿病的小鼠。

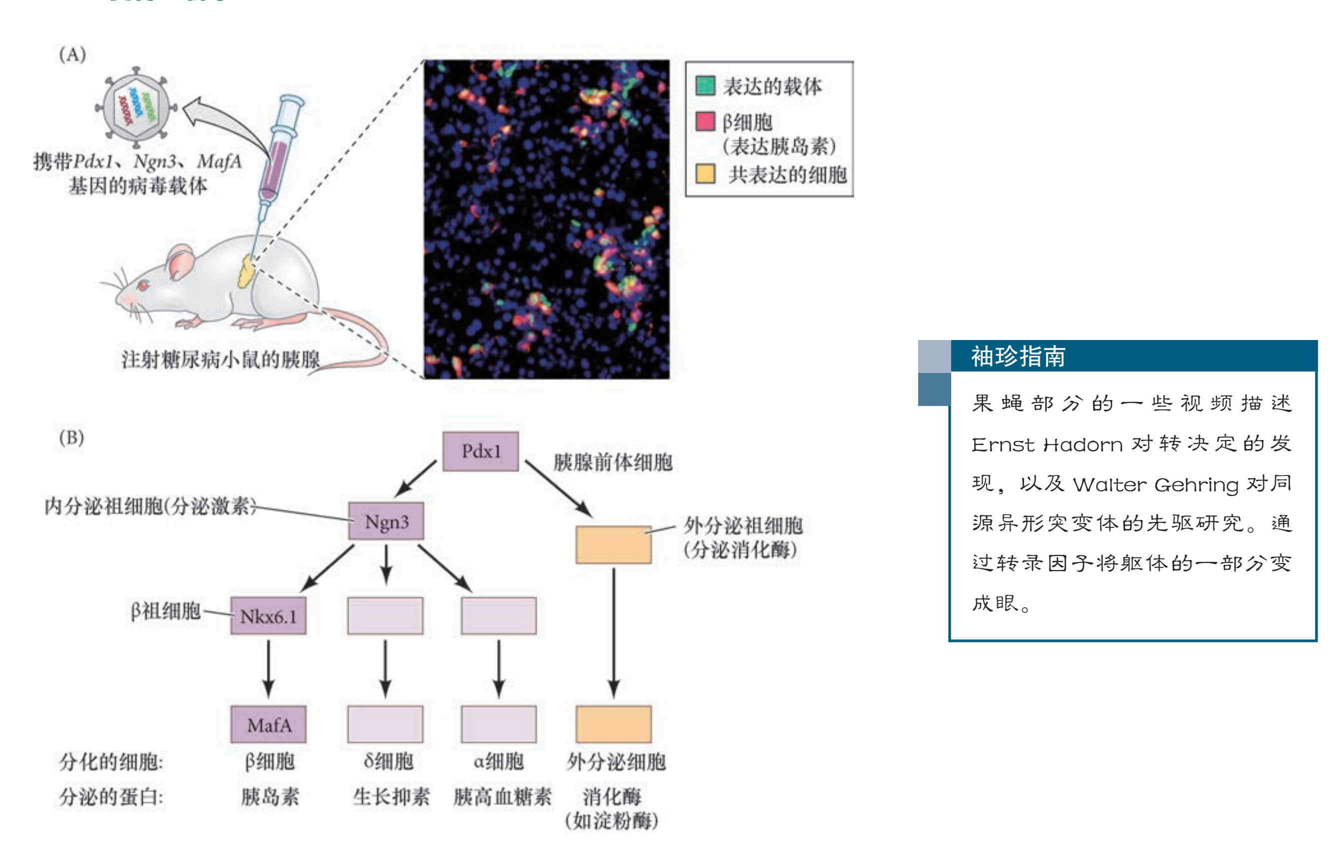


图 3.15 胰腺细胞谱系、转录因子、用于治疗糖尿病的 β 细胞的直接转化。(A) 通过病毒感染的方法在糖尿病小鼠模型中表达三个转录因子 (Pdx1、Ngn3、MafA)，在成体小鼠胰腺中产生新的胰腺 β 细胞。病毒感染的外分泌细胞（在照片中显示的细胞）表达核绿色荧光蛋白。新诱导的 β 细胞可用胰岛素染色检测（红色）。两种颜色的重叠（代表共表达的细胞）产生黄色。所有胰腺细胞的核都用蓝色标记。(B) 一些转录因子在胰岛 β 细胞发育中的作用。Pdx1 蛋白对一些内胚层细胞向胰腺前体细胞（深紫色细胞谱系）的特化有关键作用。表达 Pdx1 的细胞的后代在表达 Ngn3 时变成内分泌（分泌激素）谱系（各种紫色）；而不表达 Ngn3 的细胞变成外分泌（分泌消化酶）谱系（金黄色）。在胰岛中分泌激素的细胞类型包括分泌胰岛素的 β 细胞、分泌生长抑素的 δ 细胞、分泌胰高血糖素的 α 细胞。Nkx6.1 转录因子表达在预定 β 细胞中，它激活编码 MafA 转录因子的基因，而 MafA 在产生胰岛素的 β 细胞中表达（图由 D. Melton 提供）。

袖珍指南

果蝇部分的一些视频描述 Ernst Hadorn 对转决定的发现，以及 Walter Gehring 对同源异形突变体的先驱研究。通过转录因子将躯体的一部分变成眼。

这些研究为再生医学这个新学科敞开了大门，证明了一些转录因子可以将一种类型的成体细胞转变成另一种类型的可能性，而这些转录因子在胚胎发育过程中的确调节这种新的细胞类型的分化。在某些情况下，一些细胞的发育史可能会有很大的差异。例如，只需使用两个肝转录因子：肝细胞核因子 -4α(Hnf4α) 和叉头框蛋白 -A1(FoxA1)，就能将成体小鼠的表皮成纤维细胞（中胚层来源的表皮结缔组织细胞）转变成内胚层的肝细胞样细胞。这些被诱导的肝细胞能产生多种肝特异蛋白，并且能在成体小鼠中替代肝细胞 (Sekiya and Suzuki 2011)。的确，多个实验室 (Caiazzo et al. 2011；Pfisterer et al. 2011；Qiang et al. 2011) 通过在成体表皮细胞中表达三个独特的转录因子，将人和小鼠的成纤维细胞“重新编程”为有功能的多巴胺能神经元（例如，在帕金森病中退化的神经细胞类型）。其他一些实验室 (Son et al. 2011) 用其他组合的转录因子将成体人的成纤维细胞转变成有功能的脊髓运动神经元（在伽雷病中退化的神经元类型）。这些“诱导神经元”具有脊髓神经的电生理特征，并且能与肌细胞形成突触。这些细胞类型的转变有助于揭示主调节转录因子在差异性基因表达中的作用。为什么仅仅几个转录因子就能启动细胞类型特异的基因表达？是什么控制基因表达？在不能确定的时候谁该负责任？

3.6 基因调控网络：确定单个细胞

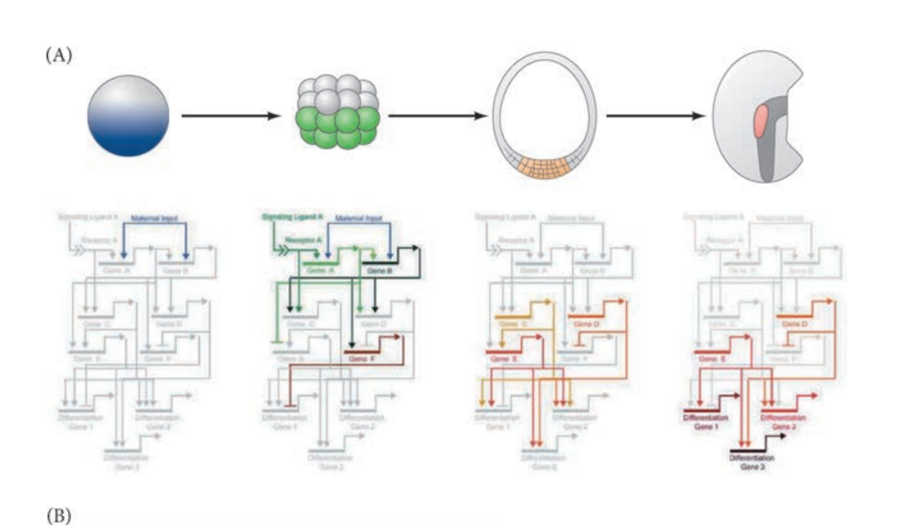
这一章讲到这里，我们希望大家对不同的细胞类型是差异性基因表达的结果这个问题已经有了较清

楚的认识。尽管一些主调节基因对这个过程是必要的，但它们自身还不能全面地执行整个基因组的程序。

对海胆发育的研究已经开始显示出通过调节 DNA 在发育的生物体中特化细胞类型和引导形态发生的一些方式。Eric Davidson 的研究组开发了一个网络模型方法，他们把一些顺式调控元件（如启动子和增强子）构想成一个由转录因子连接的逻辑回路（**图 3.16**；见 http://sugp.caltech.edu/endomes；Davidson and Levine 2008；Oliveri et al. 2008）。这个网络接收卵细胞质中母体转录因子的首个信号输入，然后，这个网络通过以下方式进行自我组装：①母体转录因子识别其他一些特定转录因子基因的顺式调控元件的能力；②新的一组转录因子激活一些旁分泌信号途径的能力。这些旁分泌信号在邻近细胞中激活或抑制一些特定的转录因子（图 3.16A）。这些研究显示了海胆基因通过相互作用来特化和产生独特细胞类型的调控逻辑。这样一套特化细胞类型的基因之间的彼此联系称为**基因调控网络**（**gene regulatory network，GRN**），它是 Davidson 研究组首创的一个术语。因此，每一种细胞谱系、每一种细胞类型，甚至是每个独立的细胞都可以被在那一刻它所具有的基因调控网络来确定。

胚胎发育是一个庞大的信息交易，其中，DNA 序列数据能产生和指导特定细胞功能的系统性部署。

E. H. Davidson（2010）



(B)

图 3.16　海胆胚胎内胚层谱系的基因调控网络。(A) 四个发育时期的海胆胚胎图，显示内胚层细胞命运的逐渐特化（上部），以及在这个特化中从一些母体产物和信号到导致终末分化基因表达的一些主调节转录因子所对应的基因调控模型（下部）。(B) 受精后 24 h 的双荧光原位杂交照片，显示 *hox11/13b* 局部表达于 veg1 来源的细胞（红色），而 *foxa* 则表达于 veg2 来源的细胞（A 图参考 Hinman and Cheatle Jarvela 2014；B 图来自 Peter and Davidson 2011）。

拓展性问题

如何建立单个细胞的基因调控网络？这是一个概念性和技术性的挑战。在一个特定的基因调控网络中被开启和关闭的基因数量（不去关心表达速度和程度的区别）使人难以置信。对表达的基因给出一个准确的评估是一个首要的困难，这方面的技术将在本章的后部分讨论。基于实际上得到的功能数据，还需要把这些基因组织成一个有逻辑的网络。在一个胚胎不同区域的细胞中、不同的发育时期内、不同的条件下、甚至在不同的物种之间比较基因调控网络，我们能学到什么？对这些问题的答案是：很多，并且这是发育遗传学的新领域。

科学家讲座 3.4　Marianne Bronner-Fraser 博士关于七鳃鳗神经嵴基因调控网络的问答会。

3.7 差异性基因转录的机制

在 20 世纪，我们找到了“基因转录剧”中的一些“演员”，但直到 21 世纪才发现了他们的“剧本”。如何确定一个特定的转录因子在基因上结合的位置，或核小体上受特定修饰的位置？如何确定单个基因和整个基因组的“调控结构”？近来，使用染色质免疫沉淀及测序技术来鉴别蛋白质的特定 DNA 结合序列，证明了存在不同类型的启动子，它们使用不同的“剧本”来转录相应的基因。**染色质免疫沉淀及测序**（**chromatin immunoprecipitation-sequencing，ChIP-Seq**）是一个能使研究人员用已知的转录因子作为诱饵来鉴定特异 DNA 识别序列的技术（Johnson et al. 2007；Jothi et al. 2008）。我们将在本章的“方法”部分详尽介绍 ChIP-Seq 技术（见图 3.37），而在下面主要描述这个技术为我们了解差异性基因表达所提供的信息。

3.7.1 高和低 CpG 含量启动子差异调控的蛋白质

ChIP-Seq 推翻了很多关于启动子和增强子差异性调节基因表达的猜想。事实证明，并非所有的启动子都是一样的。相反，存在两类以不同方式来调控转录的启动子。这些启动子类型的归类主要是基于 CpG 序列的相对数量，而 CpG 序列是发生 DNA 甲基化的位点。

- **高 CpG 含量启动子**（**high CpG-content promoter，HCP**）通常存在于“发育调控基因”，它们调节一些转录因子及其他用于构建生物体的发育调控蛋白的合成（Zeitlinger and Stark 2010；Zhou et al. 2011）。这些启动子的默认状态是“开启”，并且它们必须被组蛋白甲基化活跃地抑制（**图 3.17A**）。
- **低 CpG 含量启动子**（**low CpG-content promoter，LCP**）通常存在于蛋白质产物显示成熟细胞特征的基因上，如红细胞中的珠蛋白、胰腺细胞中的激素、在细胞中行使正常维持功能的酶。这些启动子的默认状态是“关闭”，但它们能被转录因子激活（**图 3.17B**）。这些启动子上的核小体具有少量处于抑制状态的修饰组蛋白。然而，它们在 DNA 上的 CpG 位点通常被甲基化，而这样的甲基化对抑制转录很重要。当 DNA 被脱甲基化时，组蛋白被修饰成 H3K4me3，变得松散，使 RNA 聚合酶 II 能结合 DNA。

3.7.2 DNA 甲基化——另一个关键的转录开关

在本章的前部分，我们讨论了组蛋白甲基化和它对转录的重要性。现在我们关注一下 DNA 自身如何通过甲基化来调节转录。一般而言，在不活跃基因的启动子上一些胞嘧啶残基都会被甲基化，这样产生的甲基胞嘧啶能稳定核小体并阻止转录因子的结合。这个特征对低 CpG 含量启动子尤为重要。

通常认为，不管一个基因处在活跃或不活跃的状态，它都含有完全相同的碱基；也就是说，在同一动物中，红细胞前体中被激活的 β- 珠蛋白基因与成纤维细胞或视网膜细胞中不被激活的 β- 珠蛋白基因有相同的碱基。但是，细微的差别还是存在的。在 1948 年，R. D. Hotchkiss 发现 DNA 上有“第五种碱基”，即 **5- 甲基胞嘧啶**（**5-methylcytosine**）。在脊椎动物中，这个碱基是在 DNA 复制后被酶催化产生的。目前，哺乳动物 DNA 上大约有 5% 的胞嘧啶被转变成 5- 甲基胞嘧啶（**图 3.18A**）。这种转变只见于后面紧随着一个鸟苷的胞嘧啶；换句话说，它只发生在一个 CpG 序列上（我们马上就会看到，这个限定很重要）。众多的研究证明，一个基因上胞嘧啶的甲基化程度能控制这个基因的转录水平。在很多生物门，胞嘧啶甲基化看来是转录调节的一个主要机制，但 DNA 甲基化的含量在不同物种中却有很大差异。例如，植物拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）具有最高比例的甲基化胞嘧啶，达到 14%。小鼠是 7.6%，大肠杆菌是 2.3%（Capuano et al. 2014）。很有意思的是，在很长一段时间内，研究人员一直认为果蝇和线虫这两种模

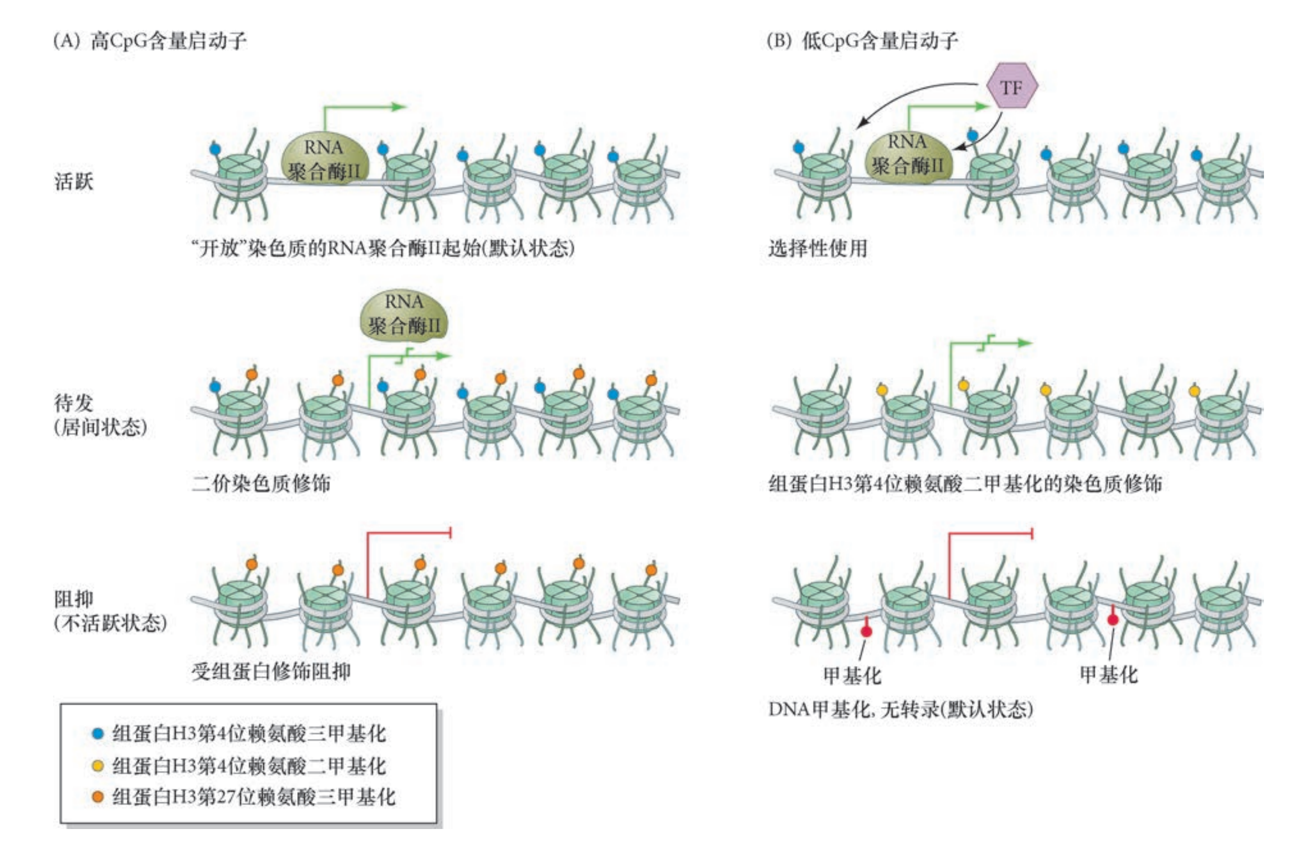


图 3.17　高 CpG 含量启动子和低 CpG 含量启动子的染色质调节。CpG 含量高和含量低的启动子具有不同的调节方式。(A) 高 CpG 含量启动子通常处在一个“活跃”状态，DNA 未甲基化，核小体富含 H3K4me3。开放的染色质使 RNA 聚合酶 II 能结合 DNA。处在平衡（待发）状态的高 CpG 含量启动子是一个二价体，既有激活性 (H3K4me3) 也有抑制性 (H3K27me3) 修饰的核小体。RNA 聚合酶 II 能结合但不能起始转录。处在抑制状态的特征是抑制性组蛋白修饰，但没有过多的 DNA 甲基化。(B) 活跃的低 CpG 含量启动子，与高 CpG 含量启动子一样，具有富含 H3K4me3 的核小体和低水平的甲基化，但需要转录因子 (TF) 的刺激。处在待发状态的低 CpG 含量启动子能被转录因子激活，含有相对未甲基化的 DNA 和富含 H3K4me2 的核小体。在通常状态下，低 CpG 含量启动子被富含 H3K27me3 的甲基化 DNA 核小体所抑制（参考 Zhou et al. 2011）。

式生物不含有甲基化胞嘧啶，然而近来使用更敏感的研究方法[12]检测到了低水平的甲基化胞嘧啶，在果蝇是 0.034%，在线虫是 0.0019% ～ 0.0033%(Capuano et al. 2014；Hu et al. 2015)。目前，使用同样的高分辨率手段却未能在酵母中检测到甲基化胞嘧啶。为什么在不同物种中存在如此之大的 DNA 甲基化差异，仍然是一个悬而未解的问题。

在脊椎动物，一个基因的启动子上是否有甲基化胞嘧啶，与这个基因的转录抑制状态相关。例如，在发育的人和鸡的红细胞中，珠蛋白基因的启动子 DNA 几乎完全没有被甲基化，而相同的启动子在不产生珠蛋白的细胞中却被高度甲基化。而且，DNA 甲基化的图式在发育过程中也会发生改变（图 3.18B）。在产生血红蛋白的人胚胎细胞中，编码胚胎血红蛋白的 ε- 珠蛋白（“胚胎珠蛋白链”）的基因有未甲基化的启动子。当胎儿特异性 γ- 珠蛋白（非胚胎珠蛋白链）的基因被激活时，这些胚胎珠蛋白基因的启动子在胎儿组织中就被甲基化 (van der Ploeg and Flavell 1980；Groudine and Weintraub 1981；Mavilio et al. 1983)。类似地，胎儿 γ 珠蛋白被成体 β 珠蛋白取代时，胎儿珠蛋白基因的启动子就会被甲基化。

DNA 甲基化阻止转录的机制　DNA 甲基化似乎是通过两种方式抑制基因表达。第一，它阻止转录因子与增强子的结合。一些转录因子能与一个非甲基化的 DNA 序列结合，但如果 DNA 中有一个胞嘧啶被甲基化，它们便不能结合（图 3.19）。第二，一个甲基化的胞嘧啶能招募一些促进组蛋白甲基化或脱乙

[12] Capuano et al. (2014) 文章中使用的方法是液相层析及串联质谱法 (LC-MS/MS)，这个方法能特异地检测 DNA 上的 5- 甲基胞嘧啶，避免受潜在 RNA 甲基化的干扰。

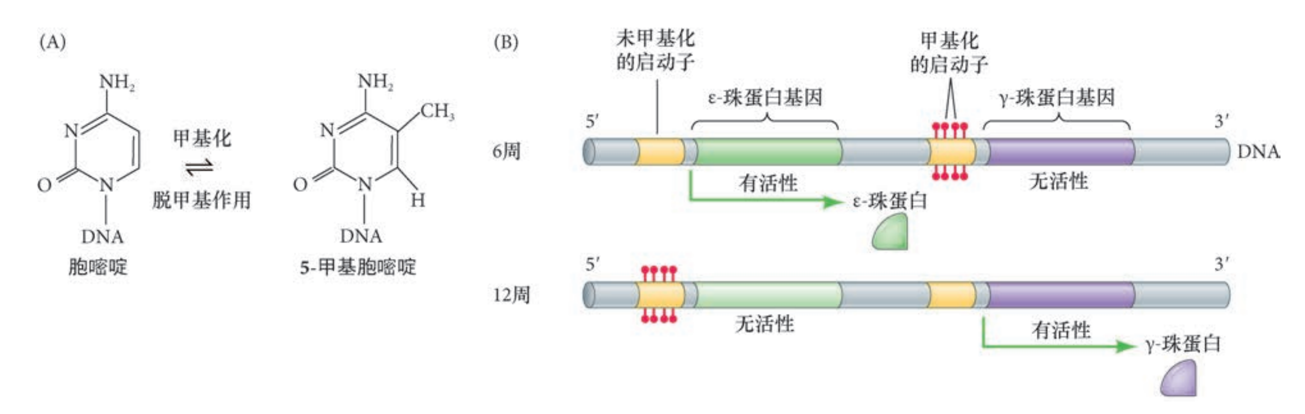


图 3.18 人胚胎血细胞中珠蛋白基因的甲基化。(A) 5- 甲基胞嘧啶的结构。(B) 人的珠蛋白基因的活性与它的启动子的甲基化状态呈负相关性（参考 Mavilio et al. 1983）。

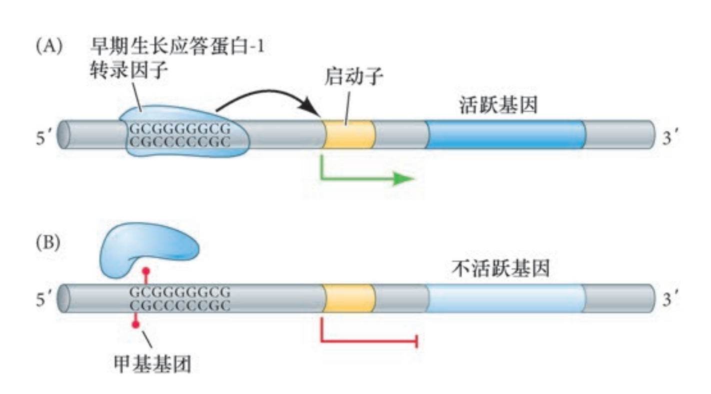


图 3.19 DNA 甲基化通过阻碍转录因子与增强子区域的结合来阻止转录。(A) 早期生长应答蛋白 -1 (Egr1) 转录因子能与 5′…GCGGGGGCG…3′ 这样的特定 DNA 序列结合，帮助具有这种序列的基因转录。(B) 如果第一个胞嘧啶被甲基化，Egr1 就不能结合，这个基因就被维持在抑制状态（参考 Weaver et al. 2005）。

酰化的蛋白质，因此能稳定核小体。例如，DNA 上被甲基化的胞嘧啶能结合一些特定的蛋白质，如甲基化 CpG 结合蛋白 -2 (MeCP2)[13]。与一个甲基化的胞嘧啶相连接后，MeCP2 就会结合组蛋白脱乙酰酶和组蛋白甲基转移酶，这两个酶分别在组蛋白上去除乙酰基团（**图 3.20A**）和添加甲基基团（**图 3.20B**）。其结果是核小体与 DNA 形成紧密的复合物，使其他转录因子及 RNA 聚合酶 II 无法找到相应的基因。其他一些蛋白质，如异染色质蛋白 -1 (HP1) 和组蛋白 H1，能结合并聚集甲基化的组蛋白 (Fuks 2005；Rupp and Becker 2005)。通过这种方式，被抑制的染色质与具有甲基化胞嘧啶的区域就连接在一起。

DNA 甲基化图式的遗传继承 被甲基化 CpG 结合蛋白 -2 招募到染色质上的另外一个酶是 DNA 甲基转移酶 -3 (Dnmt3)。这个酶使 DNA 上之前没有被甲基化的胞嘧啶变成甲基化形式。以这样的方式，一个相对较大的染色质区域就被抑制。这个新建立的甲基化图式被 DNA 甲基转移酶 -1 (Dnmt1) 传递到下一代。这个酶识别一条 DNA 链上的甲基化胞嘧啶，并在新合成的反义链上添加一些甲基基团（**图 3.21**；见 Bird 2002；Burdge et al. 2007）。这就是为什么 DNA 序列上的胞嘧啶后面需要紧随着一个鸟苷。因此，在每一次细胞分裂时，DNA 的甲基化图式便得以维持。Dnmt1 与模板链上 CpG 序列的一个甲基胞嘧啶结合，然后使互补链上 CpG 序列的胞嘧啶甲基化，这样新合成（未甲基化）的 DNA 链就能被正确地甲基化。通过这种方式，一旦 DNA 甲基化的图式在细胞中建立，它就会被这个细胞的所有后代稳定继承下去。

基因组印记和 DNA 甲基化 DNA 甲基化至少解释了一个非常令人困惑的现象，即基因组印记 (Ferguson-Smith 2011)。通常认为从父本继承而来的基因与从母本继承而来的基因是均等的。事实上，孟德尔比率（以及庞纳特首创的用于计算基因型比率和表型比率的方格分析）的基础是，不管基因来自精子或来自卵子都没有关系。但对于哺乳动物的大约 100 个基因来说它就变得有关系（国际人类表观基因

---

[13] 在人类，缺失甲基化 CpG 结合蛋白 -2 (MeCP2) 是 X- 连锁综合征的主要原因，导致脑病（脑障碍）和雄性早期死亡，但在雌性中导致 Rett 综合征（一种神经系统紊乱，呈现出一些自闭症谱系障碍的症状）。缺失 MeCP2 后导致这些病理状态的机制还不清楚，但一些研究显示它通过一个信号途径 (mTOR) 影响突触的可塑性 (Pohodich and Zoghbi 2015；Tsujimura et al. 2015)。

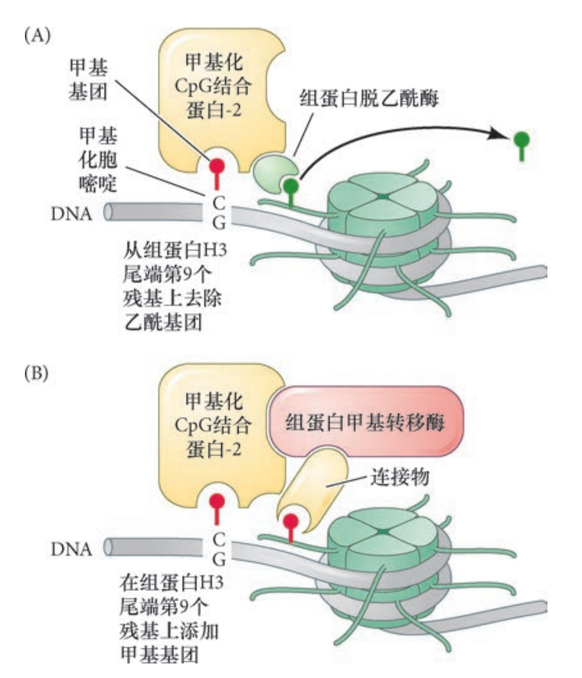


图 3.20　通过 DNA 的甲基化修饰核小体。MeCP2 识别 DNA 的甲基胞嘧啶，它与 DNA 结合后招募组蛋白脱乙酰酶（从组蛋白上去除乙酰基团）(A) 或组蛋白甲基转移酶（为组蛋白添加甲基基团）(B)。这两种修饰都能促进核小体的稳定以及 DNA 的紧密组装，因此，DNA 的甲基化区域抑制基因表达（来自 Fuks 2005）。

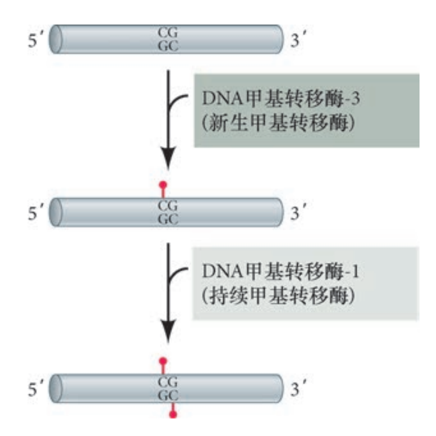


图 3.21　对 DNA 修饰至关重要的两个 DNA 甲基转移酶。“新生”甲基转移酶 Dnmt3 将甲基基团添加到未甲基化的胞嘧啶上。“持续”甲基化转移酶 Dnmt1 识别一条链上的甲基化胞嘧啶，使反义链上一对胞嘧啶和鸟苷中的胞嘧啶发生甲基化。

组联盟）[14]。在这些情况下，来自雄性的染色体与来自雌性的染色体是不均等的；只有来自精子或来自卵子的等位基因才被表达。因此，如果一个突变等位基因来自一个亲本会导致严重或致死的情况，但同样一个突变等位基因如果来自另一亲本将不会产生有害影响。在某些这样的情况下，不发挥功能的基因被 DNA 甲基化而失活，这意味着一个哺乳动物必须有一个雄性的亲本和一个雌性的亲本。不像海胆、果蝇，甚至是一些火鸡那样，哺乳动物不会出现孤雌生殖或“处女生子”。一些甲基基团在精子发生或卵子发生过程中被一系列的酶添加在 DNA 上，这些酶首先将原有的甲基基团从染色质上去除，然后在 DNA 上添加性别特异的甲基基团（Ciccone et al. 2009；Gu et al. 2011）。

如在本章所描述，甲基化的 DNA 通过以下方式使 DNA 稳定性沉默：①干扰一些激活基因的转录因子与 DNA 结合；②招募一些沿着基因以限制性方式稳定核小体的抑制蛋白。在 DNA 的小沟（窄沟）里出现一个甲基基团就能阻碍一些转录因子与 DNA 结合，进而阻止基因的激活（Watt and Molloy 1988）。

例如，在小鼠的早期胚胎发育过程中，编码胰岛素样生长因子的 *Igf2* 基因只在来自精子（父本）的 7 号染色体上被转录。来自卵（母本）的 *Igf2* 基因在胚胎发育过程中不行使功能，因为 CTCF（CCCTC 结合因子）作为一个抑制因子，能阻止启动子接收来自增强子的激活信号。在雌性胚胎中，CTCF 蛋白结合 *Igf2* 基因附近的一个区域，因为这个区域没有被甲基化。CTCF 蛋白结合到这个区域后就会阻止母本 *Igf2* 基因发挥功能。在父本的 7 号染色体上，CTCF 蛋白结合的区域被甲基化，所以它不能结合，这个基因的功能也因此不被抑制（**图 3.22**；Bartolomei et al. 1993；Ferguson-Smith et al. 1993；Bell and Felsenfeld 2000）。

在人类，*IGF2* 基因甲基化的错误调节会导致贝克威思 - 威德曼生长综合征（Beckwith-Wiedemann growth syndrome）。尽管 DNA 甲基化是这个基因在小鼠和人类产生印记的机制，但在这两个物种中，卵子和精子之间 *Igf2* 的差异性甲基化机制却有很大区别（Ferguson-Smith et al. 2003；Walter and Paulsen

[14] 小鼠的印记基因可在以下网站查询：www.mousebook.org/all-chromosomesimprinting-chromosome-map

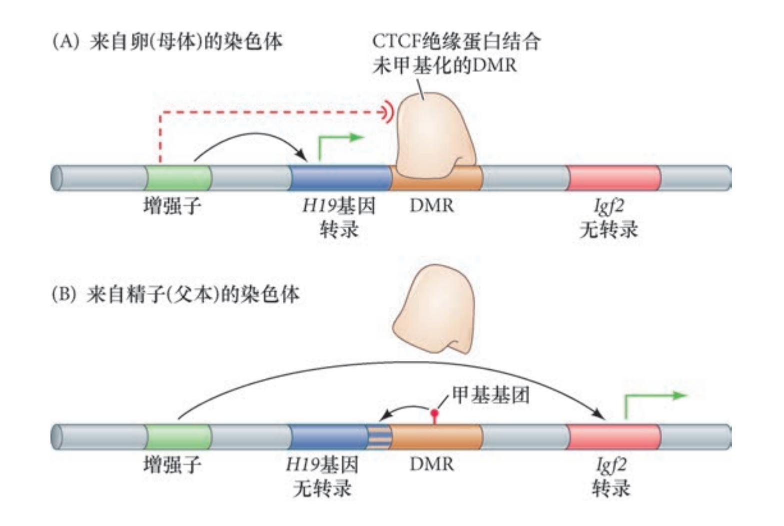


图 3.22 小鼠胰岛素样生长因子 -2（*Igf2*）印记基因的调节。*Igf2* 基因与 *H19* 基因共享一个增强子，并被这个增强子激活。差异性甲基化区域（DMR）处在这个增强子和 *Igf2* 基因之间的序列，并且都存在于来自精子和卵子的染色体。(A) 来自卵子的染色体上的 DMR 没有被甲基化。CTCF 绝缘蛋白与 DMR 的结合阻止了增强子的信号。(B) 来自精子的染色体上的 DMR 被甲基化，CTCF 绝缘蛋白不能与甲基化的序列结合，来自增强子的信号激活 *Igf2* 的转录。

2003）。差异性甲基化是表观遗传变异的最重要机制之一，它也提示我们不能只用基因去解释一个生物体。我们既需要发育方面的知识（如一个基因是否被传递它的配子所修饰），也需要遗传方面的知识。

网络话题 3.4 **平衡状态（待发状态）染色质** 了解更多关于待发状态的染色质，它们使用高 CpG 含量启动子对发育信号产生快速的转录应答。

网络话题 3.5 **染色质消减** 一些整条的染色体失活或去除在无脊椎动物中并不是罕见的，而且，这有时会用来作为性别决定的机制。在一些生物中，染色体的一部分致密和脱离，以至于只有生殖细胞具有完整的染色质。

网络话题 3.6 **核膜在基因调节中的作用** 有证据显示很多基因受定位在核膜的一些酶所调节。核膜内侧（核纤层）对激活或沉默基因可能是很关键的。

3.8 差异性 RNA 加工

基因表达的调节并非只局限于差异性 DNA 转录。即使一个特定的 RNA 转录物被合成后，也不能保证它会在细胞中产生一个有功能的蛋白质。要产生一个有活性的蛋白质，核 RNA 必须：①将内含子去除以加工成信使 RNA；②从细胞核转运到细胞质；③被蛋白质合成机器翻译。在某些情况下，新合成的蛋白质也还没有处在成熟的状态，它们必须经历翻译后修饰才能具有活性。在发育过程中，RNA 加工的调节可以发生在以上任何步骤。

在细菌中，差异性基因表达受转录、翻译、蛋白质修饰的影响。但是在真核生物中出现了另一个水平的调节——RNA 加工和转运水平的调节。**差异性 RNA 加工**（**differential RNA processing**）是在 mRNA 前体上将不同组合的潜在外显子剪接成编码不同蛋白质的信使 RNA。如果一个 mRNA 前体有 5 个可能的外显子，一种细胞类型可能使用第 1、2、4 和 5 外显子；而另一种不同的细胞类型可能使用第 1、2 和 3 外显子；还有别的细胞类型可能使用全部 5 个外显子（图 3.23）。因此，一个基因能产生一整个家族的蛋白质。被同一基因编码的不同蛋白质称为这个蛋白质的**剪接异构体**（**splicing isoform**）。

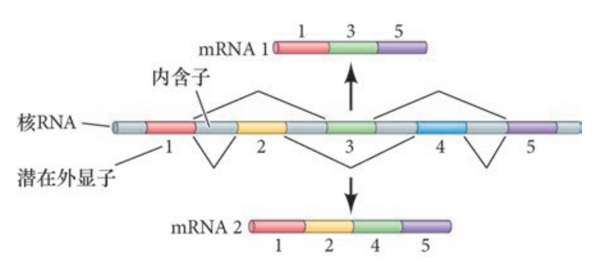


图 3.23 差异性 RNA 加工。按照惯例，剪接途径用 V 形线显示。差异性加工通过选择性使用不同的外显子，将同一个核 RNA 加工成不同的 mRNA。

3.8.1　差异性核 RNA 加工产生一些家族的蛋白质

核 RNA 可变剪接（**alternative nRNA splicing**）是从一个基因产生多种蛋白质的方式，并且大多数脊椎动物基因所转录的核 RNA 都会经历可变剪接 [15]（Wang et al. 2008；Nilsen and Graveley 2010）。脊椎动物的核RNA在平均水平上含有一些相对较短的外显子（平均长度为140个碱基），被一些很长的内含子隔开。多数哺乳动物的核 RNA 含有许多外显子。通过剪接不同组合的外显子，不同的细胞就能产生不同类型的mRNA，因此表达不同的蛋白质。识别核 RNA 序列上的外显子或内含子是基因调节的关键步骤。

核 RNA 可变剪接的基础是确定哪些序列要被作为内含子切掉，这可以通过两种方式实现。多数基因在内含子的 5′ 端和 3′ 端含有**共有序列**（**consensus sequence**），这些序列就是内含子的“剪接位点”。核 RNA 的剪接是通过结合到剪接位点的**剪接体**（**spliceosome**）来完成的。剪接体由核小 RNA（snRNA）和结合到剪接位点或剪接位点附近的一些**剪接因子**（**splicing factor**）蛋白组成。通过表达特定的剪接因子，不同的细胞在识别一个内含子序列时就会存在差异。也就是说，一个序列在一种细胞类型中被识别为外显子，但在另一种细胞类型中就有可能被识别为内含子（**图 3.24A，B**）。在其他情况下，一个细胞中的剪接因子可能会识别不同的 5′ 端位点（内含子的起始）或不同的 3′ 端位点（内含子的末尾；**图 3.24C，D**）。

核 RNA 的 5′ 端剪接位点通常被核小 RNA U1（U1 snRNA）和剪接因子 -2（SF2；也称为可变剪接因子）所识别。3′ 端可变剪接位点的选择通常受控于哪个剪接位点可以与 U2 辅助因子（U2AF）最佳结合。当聚集在 5′ 端剪接位点和 3′ 端剪接位点的蛋白质相接触时，就会形成一个剪接体。一旦内含子的 5′ 端和 3′ 端被带到一起，整个序列就会被切掉，然后两个外显子被连接在一起。

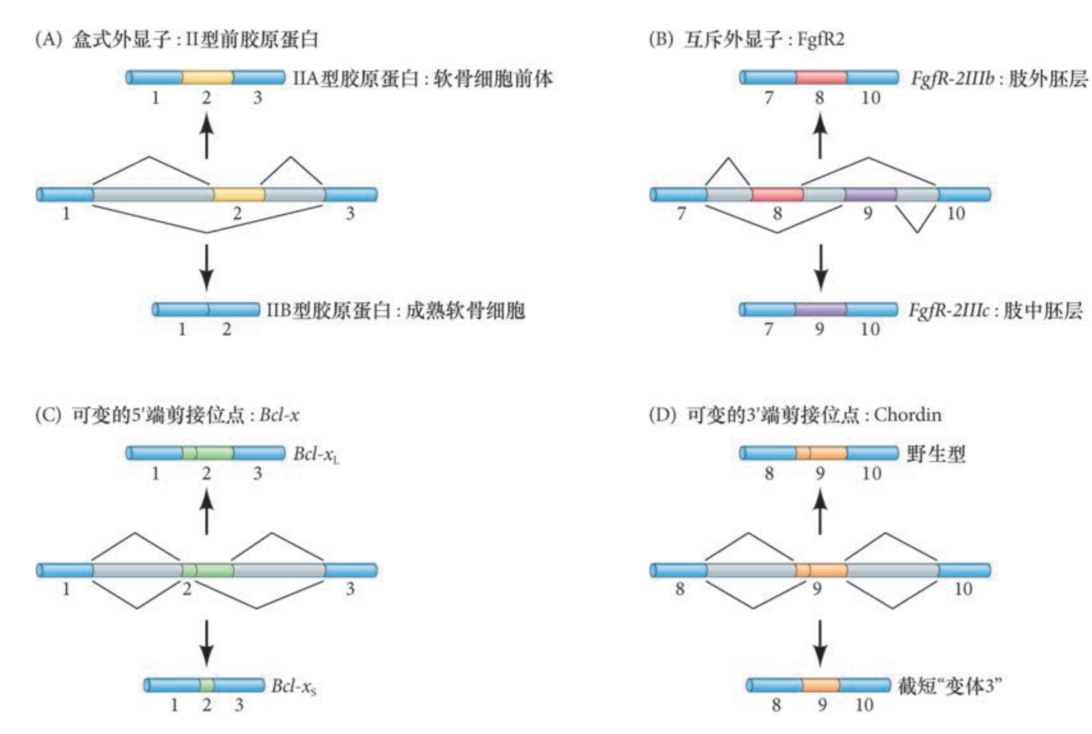


图 3.24　RNA 可变剪接的一些例子。蓝色和其他彩色的棒状部分代表外显子；灰色代表内含子。可变剪接图式用 V 形线显示。（A）一个可被当成外显子或作为内含子而去除的“盒”（黄色）能区分软骨细胞前体和成熟软骨细胞中 II 型胶原蛋白的类型。（B）互相排斥的外显子能区分肢外胚层和肢中胚层的成纤维细胞生长因子受体。（C）可变的 5′ 端剪接位点选择，如用于产生 Bcl-X 蛋白的大异构体和小异构体。（D）可变的 3′ 端剪接位点被用于产生正常的和截短形式的 Chordin 蛋白（参考 McAlinden et al. 2004）。

---

[15] 突变能造成物种特异的剪接事件，在不同的脊椎动物中，核 RNA 剪接出现组织性差异的频率是基因转录变化的 10 ～ 100 倍（Barbosa-Morais et al. 2012；Merkin et al. 2012）。

在某些情况下，可变剪接形成的 RNA 在同一细胞中能产生功能类似但又有区别的一些蛋白质。维尔姆斯瘤蛋白 -1（WT1）的不同异构体在生殖腺和肾发育中具有不同的功能。不含第 5 个附加外显子（编码 17 个氨基酸）的异构体在肾发育过程中作为转录因子行使功能，而含有这个外显子的异构体对睾丸发育好像有很重要的作用（Hammes et al. 2001；Hastie 2001）。

Bcl-x 基因是核 RNA 可变剪接使蛋白质功能产生巨大差异的一个很好的例子。如果一个特定的 DNA 序列被作为外显子使用，就会产生一个 “大 Bcl-X 蛋白”或 Bcl-X_L（见图 3.24C）。这个蛋白质抑制程序性细胞凋亡。但是，如果这个序列被当成一个内含子，就会产生一个“小 Bcl-X 蛋白”（Bcl-X_S），这个蛋白质诱导程序性细胞凋亡。很多肿瘤的 Bcl-X_L 含量都高于正常细胞。

如果在我们的讨论之后，你感到一个具有几十个内含子的基因通过差异性剪接能产生数千个不同但相关的蛋白质，那么你有可能是对的。目前，从同一个基因产生多种蛋白质的冠军是果蝇的唐氏综合征细胞黏附分子（*Dscam*）基因[16]。这个基因编码一个膜黏附蛋白，阻止同一神经元树突之间的相互作用（Wu et al. 2012）。它含有 115 个外显子，而且 12 个不同的相邻 DNA 序列可以被选择为第 4 个外显子，30 多个互斥的相邻 DNA 序列可以分别变成第 6 和第 9 外显子（**图 3.25A**；Schmucker et al. 2000）。如果使用这些外显子所有可能的组合，这个基因会产生 38 016 个不同的蛋白质；对这些组合的随机检测显示，很大一部分组合的确存在。*Dscam* 的核 RNA 在不同神经元中经历可变剪接，当表达相同 *Dscam* 的神经元上的树突相接触时，它们便相互排斥（Wu et al. 2012；**图 3.25B**）。这种排斥促进树突的广泛分支，保证神经元之间轴突和树突的正常形成。看来似乎需要几千个剪接异构体才能保证每个神经元获得一个独有的特征（**图 3.25C**；Schmucker 2007；Millard and Zipursky 2008；Miura et al. 2013）。并且，在一个特定神经元中表达的 Dscam1 异构体的组合也会在每一轮 RNA 合成时出现变化！这种可变剪接在时间上的变化可能是对树突分支过程中神经元与神经元相互作用所产生的应答。现在认为果蝇的基因组含有 14 000 个基因，但在这里，*Dscam* 基因编码的蛋白质数量差不多是这个数目的 3 倍！

网络话题 3.7 **核 RNA 选择对早期发育的调控** 除了核 RNA 可变剪接以外，从核 RNA 到 mRNA 这个时期也能通过 RNA“审核”受到调节，即选择哪些核转录物应被加工成细胞质中的 mRNA。不同的细胞选择不同的核转录物，将其加工后以信使 RNA 的形式转运到细胞质。

网络话题 3.8 **现在你知道一个基因是什么了吗?** 不同的学者对基因有不同的定义，大自然赋予我们一些不确定的 DNA 序列，它们可以被看成是基因，也可以被看成不是。

3.8.2 剪接增强子和识别因子

差异性 RNA 加工的机制包括核 RNA 上的顺式作用序列，以及结合这些区域的反式作用蛋白因子（Black 2003）。核 RNA 上的顺式作用序列通常位于它们的 5′ 端或 3′ 端剪接位点。这些序列称为**剪接增强子**（**splicing enhancer**），因为它们能在 RNA 的切割位点上促进剪接体的组装。相反地，如果它们把一个外显子从 mRNA 序列上排除出去，同样的序列也能变成“剪接沉默子”。这些序列被反式作用蛋白识别，并且大多数这样的蛋白质能将剪接体招募到剪接位点。但是，一些反式作用蛋白，如多嘧啶串结合蛋白（polypyrimidine tract-binding protein，PTP），能在它们结合 RNA 的位置抑制剪接体的形成。的确，各种 PTP 控制一系列核 RNA 的剪接。例如，PTPb 阻止神经系统的核 RNA 在成体神经元的特异剪接，控制细胞命运、细胞增殖、肌动蛋白骨架，以此将神经元前体维持在一个增殖和未成熟的状态（Licatalosi et al. 2012）。

[16] *DSCAM*（*Down syndrome cell adhesion molecule*）是在 21 号染色体“唐氏综合征”区域发现的基因。该基因编码的细胞黏附分子通过同亲和结合对轴突导向起重要作用。

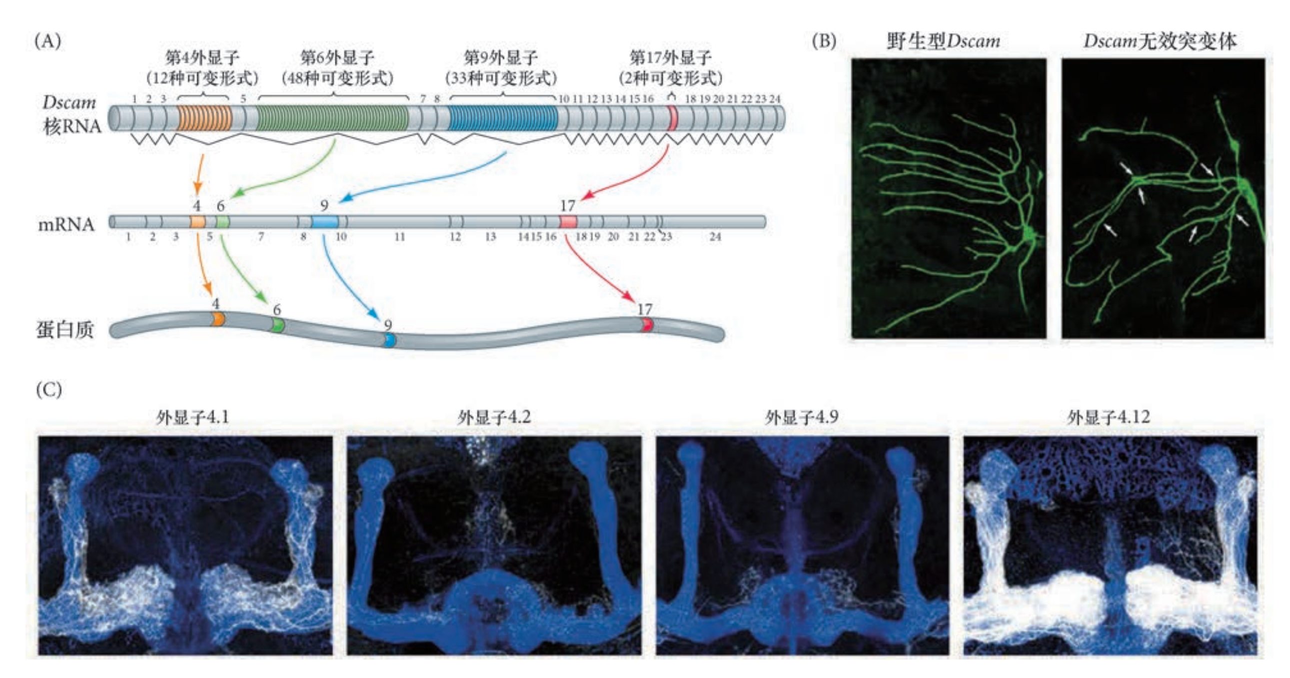


图 3.25　果蝇 *Dscam* 基因通过核 RNA 可变剪接产生 38 016 个不同类型的蛋白质。(A) 这个基因含有 24 个外显子，第 4、6、9 和 17 外显子被一些可能的互斥序列编码。每个信使 RNA 包含 12 个可能的第 4 外显子之一、48 个可能的第 6 外显子之一、33 个可能的第 9 外显子之一，以及 2 个可能的第 17 外显子之一。果蝇 *Dscam* 基因与人类 21 号染色体上表达在神经系统的一段 DNA 序列具有同源性。在人类，干扰这个基因会导致唐氏综合征中的神经系统缺陷。(B) *Dscam* 基因对树突之间的自我回避和形成分散图式的树突是必需的（左图）。在果蝇中缺失 *Dscam* 基因导致来自同一神经元上树突的交叉和成束生长（右图；箭所示）。(C) *Dscam* 的一些可变剪接形式（外显子 4.1、4.2、4.9、4.12）在果蝇蛹中期的脑蕈状体神经元（白色）的表达图式。完整的蕈状体叶及相连的球形细胞分别用成束蛋白 II 抗体和 Dachshund 蛋白抗体染色（蓝色）(A 图参考 Yamakawa et al. 1998，Saito et al. 2000；B 图来自 Wu et al. 2012；C 图来自 Miura et al. 2013)。

拓展性问题

大约 92% 的人类基因被认为能产生多种类型的 mRNA。因此，即便是人的基因组只含有 20 000 个基因，它的蛋白质组，也就是基因组编码的蛋白质数量和类型，实际上要更大和更复杂。Christopher Burge 计算了这个数字后指出“人类的基因都身兼数职”(Ledford 2008)。这个事实解释了一个重要的悖论。人类的每个细胞核中大约有 20 000 个基因；像线虫 (*C. elegans*) 这样一个只有 959 个细胞的管形创造物也是一样。我们的毛干上有比线虫整个躯体还多的细胞数量和细胞类型。那么这个线虫用与我们差不多数量的基因在做什么？

对特定外显子的选择不仅取决于剪接体结合的共有序列，也取决于很多被一些调控因子识别的序列元件，这些调控因子参与调节剪接体在 RNA 上的结合 (Ke and Chasin 2011)。RNA 序列上的剪接增强子还能调节剪接体是否在一个特定的共有剪接序列上形成。我们能够想象到一些剪接增强子应该具有一定程度的组织特异性。肌细胞特异增强子处在一些肌细胞特异表达的外显子周围，它们被一些在早期发育过程中肌细胞特异表达的蛋白质所识别 (Ryan and Cooper 1996；Charlet-B et al. 2002)。这些蛋白质能与 PTP 竞争，否则 PTP 将会阻止肌细胞特异的外显子被纳入到成熟的信使 RNA。这样就能产生所有的肌细胞特异性异构体。但是，剪接的背景依赖性相当复杂，很难只通过序列的比较来评估。计算机可以被用来鉴别：①序列元件的组合；②这些序列与剪接衔接点的距离；③不同细胞类型中剪接产物的差异。这些信息使我们能通过一个“剪接码”来预测哪些外显子在一个细胞中被保留，而在其他细胞中不被保留 (Barash et al. 2010)。

剪接位点的突变能导致发育表型的改变。多数剪接位点突变后会产生失去功能的蛋白质和严重的疾病。例如，人的 β- 珠蛋白基因上第 2 个内含子 5′ 端的一个碱基变化能阻止剪接，形成没有功能的

mRNA（Baird et al. 1981）。这会导致 β- 珠蛋白完全缺失和一种严重类型的贫血症（通常会危及生命）。类似地，肌萎缩蛋白基因（*Dystrophin*）上一个特定的剪接位点发生突变后使外显子跳读，并导致一种严重类型的肌肉萎缩症（Sironi et al. 2001）。至少在一例有异常剪接的患者中，剪接位点的突变并没有带来任何危害，而且患者还有很强壮的身体。实际情况是，Schuelke 及其同事发现，在一个家族中有四代人的肌生成抑制蛋白基因（*myostatin*）上发生了剪接位点突变。在这个家族中，有职业运动员，还有一个 4 岁的幼童竟然能双臂完全伸展地握住两个 3 kg 的哑铃。正常的肌生成抑制蛋白基因产物使肌前体细胞停止分裂，因此它是一个负调节因子。在这个基因发生突变的哺乳动物中（包括人和小鼠），这个因子丧失了功能，因此，肌前体细胞直到经历了更多次的分裂后才开始分化，结果是形成了更多的肌肉（图 3.26）。

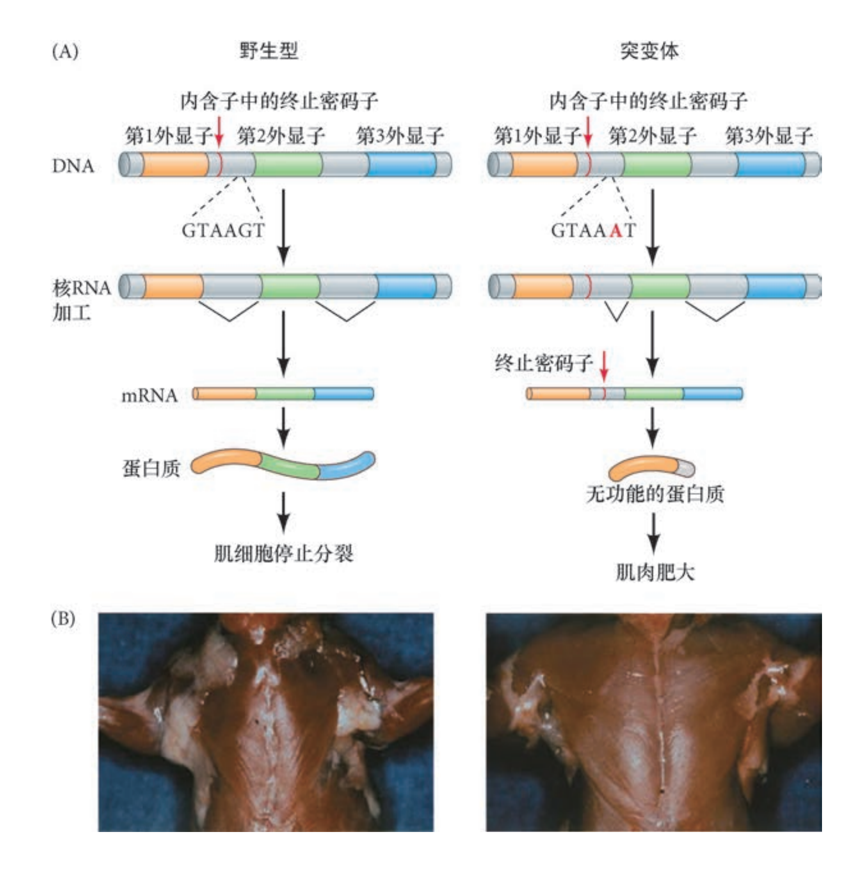


图 3.26 RNA 错误剪接导致的肌肉过度生长。这个突变在肌细胞中引起肌细胞生长负调节物——肌生成抑制蛋白的缺陷。(A) 突变的分子分析。基因编码序列没有出现突变，但在第 1 个内含子上有一个 G 到 A 的突变，产生一个新的（且普遍使用的）剪接位点，使核 RNA 出现异常剪接，在 mRNA 上过早地出现一个蛋白合成终止密码子。因此，从这个 mRNA 上合成了一个短的、没有功能的蛋白质。(B) 一个突变体（右图）“太空飞鼠”的胸肌与一个野生型（左图）小鼠的肌肉比较（A 图参考 Schuelke et al. 2004；B 图来自 McPherron et al. 1997，由 A. C. McPherron 提供）。

3.9 基因表达在翻译水平上的调控

核 RNA 的剪接与它通过核孔输出到细胞质中有密切的关系。因为内含子被去除，一些特定的蛋白质就结合到剪接体上并将剪接体和 RNA 形成的复合物附着在核孔上（Luo et al. 2001；Strässer and Hurt 2001）。覆盖在 RNA 的 5′ 端和 3′ 端的蛋白质也发生了变化。位于 5′ 端的核帽结合蛋白被真核起始因子（eIF4E）所取代，多腺苷酸尾结合细胞质多腺苷酸结合蛋白。尽管这两种变化都会促进翻译的起始，但并不能保证 RNA 进入细胞质后就能被翻译。基因表达在翻译水平上的调控可以通过多种方式完成；下面描述一些最重要的翻译调节方式。

3.9.1 差异性 mRNA 寿命

一个 mRNA 持续的时间越长，从它翻译出来的蛋白质就会越多。如果一个半衰期相对较短的信使 RNA 在某些时间被选择性地稳定在某些细胞中，它将会在那个时间内和在那些细胞中合成大量的蛋白质。

一个信使 RNA 的稳定性经常取决于多腺苷酸尾的长度，而这个长度在很大程度上又取决于 3′ 非翻

译区的序列，因为某些 3′ 非翻译区的序列比另一些序列能添加更长的多腺苷酸尾。如果用实验方法交换 3′ 非翻译区，由此产生的 mRNA 的半衰期就会被改变：长寿命的 mRNA 将会迅速降解，而短寿命的 mRNA 将会持续更长的时间（Shaw and Kamen 1986；Wilson and Treisman 1988；Decker and Parker 1995）。

在某些情况下，一些 mRNA 在特定的细胞中和特定的时间内会被选择性地稳定。酪蛋白是乳液的主要蛋白成分，它的 mRNA 在大鼠乳腺组织的半衰期是 1.1 h，但在哺乳期，催乳素的存在使它的半衰期提高到 28.5 h（图 3.27；Guyette et al. 1979）。在神经系统发育过程中，一组称为 **Hu 蛋白**（**Hu protein**）的 RNA 结合蛋白（HuA、HuB、HuC、HuD）参与稳定两类 mRNA，否则这些 mRNA 将会迅速降解（Perrone-Bizzozero and Bird 2013）。一类 mRNA 编码使神经元前体细胞停止分裂的蛋白质，另一类 mRNA 编码启动神经元分化的蛋白质（Okano and Darnell 1997；Deschenes-Furry et al. 2006，2007）。因此，Hu 蛋白被合成后，神经元前体细胞就开始分化成神经元[17]。

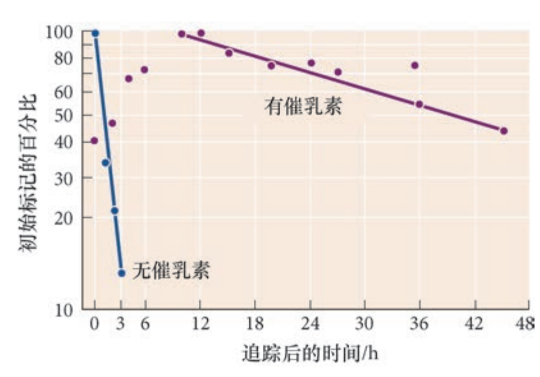


图 3.27　催乳素对酪蛋白 mRNA 降解的影响。用放射性同位素标记的 RNA 前体孵育体外培养的大鼠乳腺细胞（脉冲），在一定时间后洗脱并用非放射性标记的 RNA 前体孵育（追踪）。这个脉冲追踪法标记脉冲时合成的酪蛋白的 mRNA。在追踪后的不同时间提取酪蛋白的 mRNA 并测定放射性同位素标记。在没有催乳素时，被标记的（即新合成的）酪蛋白的 mRNA 迅速降解，半衰期为 1.1 h。如果同样的实验在含有催乳素的培养液中完成，酪蛋白的 mRNA 的半衰期延长到 28.5 h（参考 Guyette et al. 1979）。

3.9.2　储存的卵母细胞 mRNA：mRNA 翻译的选择性抑制

在翻译水平上调节基因表达的一些最显著的例子发生在卵母细胞。在减数分裂前，卵母细胞通常合成和储存受精后才使用的 mRNA。这些信使 RNA 在被一些离子信号激活之前一直处在一种休眠状态（将在第 6 和第 7 章讨论），而这些信号在排卵或受精过程中在卵中扩散。

一些储存的 mRNA 编码卵裂过程所需的蛋白质，这时的胚胎合成大量的染色质、细胞膜和细胞骨架成分。这些母体的 mRNA 包括组蛋白信使 RNA、细胞骨架中肌动蛋白和微管蛋白的转录物、调节早期细胞分裂节奏的周期蛋白的 mRNA（Raff et al. 1972；Rosenthal et al. 1980；Standart et al. 1986）。卵母细胞储存的 mRNA 和蛋白质称为**母体产物**（**maternal contribution**），即来自母体基因组的产物。在很多物种（包括海胆、果蝇、斑马鱼），早期细胞分裂的正常速度和图式的维持并不需要 DNA，甚至也可以不需要一个核！但其却需要储存的母体 mRNA 进行不间断的蛋白质合成（图 3.28；Wagenaar and Mazia 1978；Edgar et al.1994；Dekens et al. 2003）。储存的 mRNA 同样也编码决定细胞命运的蛋白质，这包括 *bicoid*、*caudal* 和 *nanos* 等信使 RNA，它们在果蝇胚胎中提供产生头部、胸部和腹部的信息。所以，在某种意义上，每个人都应该为我们的母亲在早期就给予了我们那些转录物而鼓掌。

卵母细胞中大多数翻译调节都是抑制性的，因为母体 mRNA 的“默认”状态是可供翻译。因此，在卵母细胞中必须有抑制因子来阻止这些 mRNA 的翻译，并且这些因子必须在受精前后的适宜时间被清除。信使 RNA 的 5′ 端帽和 3′ 非翻译区在调节 mRNA 对核糖体的可及性方面有特别重要的作用。如果 mRNA 上没有被添加 5′ 端帽或 3′ 非翻译区缺少多腺苷酸尾，那么这个信使 RNA 很有可能不被翻译。很多物种的卵母细胞都是以这些末端（end）为手段来调节一些 mRNA 的翻译。例如，烟草天蛾的卵母细胞合成一些 5′ 端帽没有被甲基化的 mRNA。在这种状态下，这些 mRNA 不能被有效翻译。但在受精时，一个甲基转移酶使这个帽甲基化后，这些 mRNA 便被翻译（Kastern et al. 1982）。

---

[17] 有意思的是，小鼠的 Hu 蛋白有多种可变剪接异构体，它们显示出不同的表达图式、差异的亚细胞定位（翻译后调节机制），以及对神经元存活和分化的不同作用（Hayashi et al. 2015）。

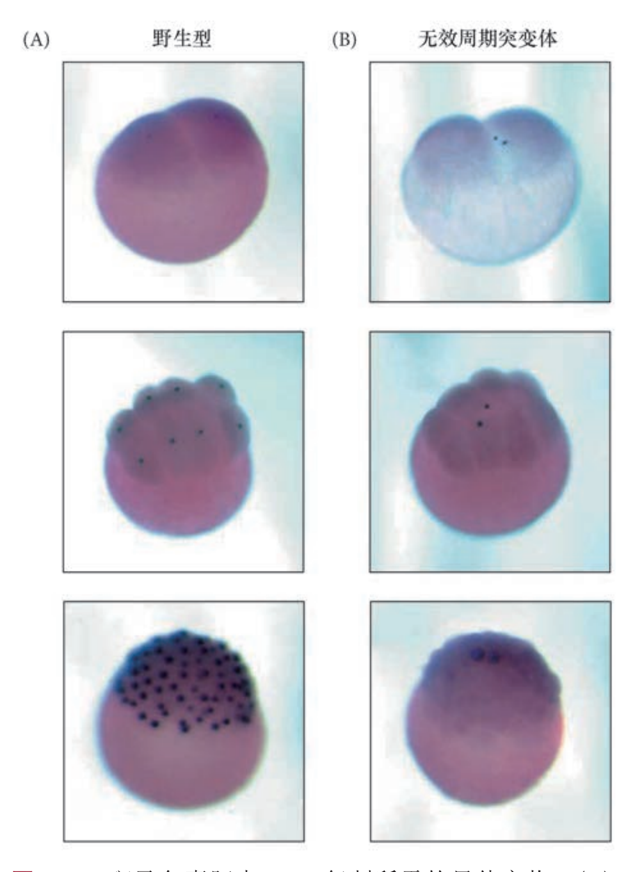


图 3.28 斑马鱼囊胚中 DNA 复制所需的母体产物。(A) 野生型囊胚显示溴脱氧尿苷 (BrdU) 标记所有的细胞核（蓝色）。(B) 在无效周期 (futile cycle) 突变体中细胞数量没有变化，这些胚胎自始至终只有两个被标记的核，显示它们的原核不能融合。即使在没有任何合子 DNA 的情况下，由于有母体产物，早期卵裂也能完好地进行。但是，无效周期突变体在原肠胚形成时停止发育（来自 Dekens et al. 2003）。

在两栖类的卵母细胞，很多 mRNA 的 5′ 端和 3′ 端被一个称为**掩蔽蛋白** (**maskin**) 的蛋白质带到一起，形成抑制性的环状结构 (Stebbins-Boaz et al. 1999；Mendez and Richter 2001)。掩蔽蛋白与分别处在 5′ 端和 3′ 端的其他两个蛋白质结合，将 mRNA 连接成一个环。首先，它与附着在 3′ 非翻译区的 UUUUAU 序列上的**细胞质多腺苷酸化元件结合蛋白** (**cytoplasmic polyadenylation-element-binding protein**，**CPEB**) 相结合；其次，掩蔽蛋白也与附着在帽序列上的真核起始因子 eIF4E 结合。处于这种状态的 mRNA 不能被翻译（图 3.29A）。这是因为 eIF4E 与掩蔽蛋白结合后可能会阻止它继续与 eIF4G 结合，而 eIF4G 能使小核糖体亚基与 mRNA 结合，是一个至关重要的翻译起始因子。

Mendez 和 Richter (2001) 用一个复杂的模型来解释被掩蔽蛋白结合的 mRNA 如何在受精前后被翻译出来。在排卵时（此时孕酮刺激卵母细胞的最后一次减数分裂，使卵母细胞排放，准备受精），一个被孕酮激活的激酶使 CPEB 蛋白磷酸化。而磷酸化的 CPEB 能结合一个切割和多腺苷酸化特异性因子——CPSF (Mendez et al. 2000；Hodgman et al. 2001)。被结合的 CPSF 蛋白定位在 3′ 非翻译区，与一个在 mRNA 上延伸多腺苷酸尾的聚合酶形成复合物。这个模型的一个重要方面是通过改变多腺苷酸尾的长度来控制翻译。在卵母细胞中，一个具有较短多腺苷酸尾的信使 RNA 虽然不被降解，但它也不能被翻译。但是，当这个尾部被延长一些后，多腺苷酸结合蛋白 (PABP) 分子就能结合上去。PABP 能稳定 eIF4G 与 eIF4E 的相互作用（与掩蔽蛋白竞争），促进核糖体在 mRNA 周围的组装并起始翻译（图 3.29B）。

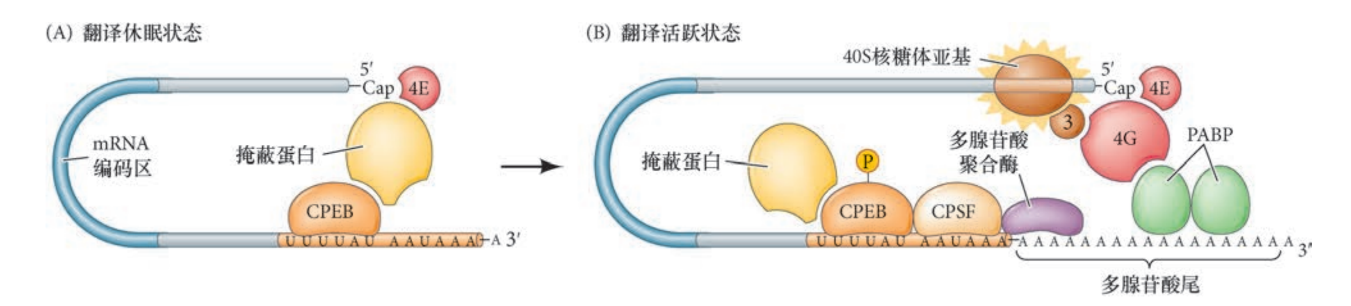


图 3.29 卵母细胞中的翻译调节。(A) 在非洲爪蛙的卵母细胞中，信使 RNA 的 5′ 端和 3′ 端被掩蔽蛋白带到一起。掩蔽蛋白同时结合 3′ 端的细胞质多腺苷酸化元件结合蛋白 (CPEB) 和 5′ 端的真核起始因子 -4E (eIF4E)，通过阻止 eIF4E 与真核起始因子 - 4G (eIF4G) 的结合而抑制翻译。(B) 在排卵过程中受到孕酮的刺激，CPEB 被一个激酶磷酸化后与切割和多腺苷酸化特异性因子 (CPSF) 结合。CPSF 结合多腺苷酸聚合酶并起始多腺苷酸尾的延长。多腺苷酸结合蛋白 (PABP) 结合到这个延长的尾上后能稳定地结合 eIF4G。而后，eIF4G 再与 eIF4E 结合，并通过它与 elF3 的联结使一个 40S 核糖体亚基在 mRNA 上定位。Cap：帽序列（参考 Mendez and Richter 2001）。

在果蝇的卵母细胞，Bicoid 蛋白启动头部和胸部的形成。这个蛋白质既能行使一个转录因子的功能（激活一些基因的表达，如参与前部形成的 *hunchback* 基因），也能作为一些基因的翻译抑制因子，如对后部发育有重要作用的 *caudal* 基因（见第 2 章和第 9 章）。Bicoid 蛋白通过结合 *caudal* 信使 RNA 上的一个"bicoid 识别元件"（位于 3′ 非翻译区上的一连串核苷酸）来抑制翻译。Bicoid 与 mRNA 结合后招募并结合 d4EHP，而 d4EHP 与 eIF4E 竞争性结合帽序列。在没有 eIF4E 的情况下，eIF4G 也不能与 mRNA 结合，因此 *caudal* 信使 RNA 就不能被翻译。以这样的方式，*caudal* 信使 RNA 在胚胎前部（Bicoid 表达量高）不被翻译，但它却能在胚胎后部发挥功能。

3.9.3　核糖体选择性：mRNA 翻译的选择性激活

长期以来人们一直认为核糖体无选择性地翻译某些 mRNA。毕竟真核生物的信使 RNA 也能被大肠杆菌的核糖体翻译，并且从未成熟的红细胞质中提取的核糖体长期以来被用于翻译任何来源的 mRNA。但是，现在已经有证据显示核糖体在所有细胞中并非都一样，而且一些核糖体蛋白对翻译某些信使 RNA 是必要的。Kondrashov 及其同事（2011）在小鼠中鉴别一个引起很多中轴骨骼畸形的突变基因时发现，这个突变并非涉及任何一个控制骨骼极性的基因。相反地，突变的基因编码核糖体蛋白 Rpl38。这个蛋白突变后，核糖体仍能翻译大多数信使 RNA，但骨骼前体的核糖体却不能翻译一些同源异形基因的 mRNA。我们在第 12 章和第 17 章将会描述，这些同源异形框转录因子在每个特定的中轴位置特化脊椎类型（有肋骨的胸椎和无肋骨的腰椎等）。缺失 Rpl38 功能后，脊椎细胞不能与同源异形基因的 mRNA 形成起始复合物，所以骨骼会出现畸形（图 3.30）。其他核糖体蛋白的突变也能导致一些缺陷的表型（Terzian and Box 2013；Watkins-Chow et al. 2013）。

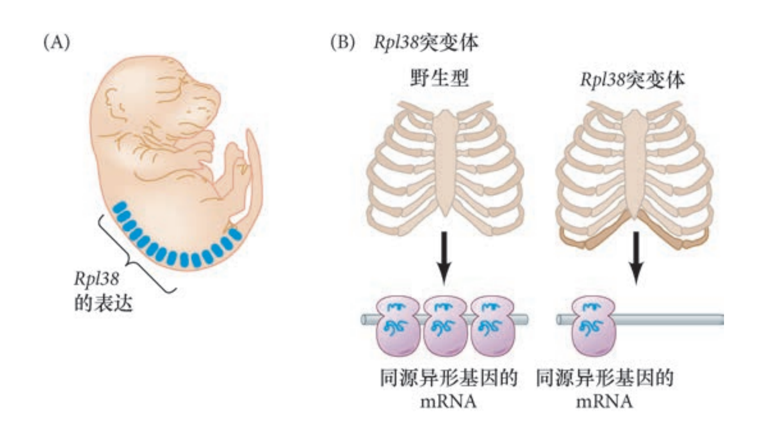


图 3.30　小鼠核糖体异质性的模型。(A) 核糖体中有稍微不同的蛋白质，取决于它们所在的组织。核糖体蛋白 Rpl38（即大核糖体亚基中的蛋白质 38）大量表达在产生脊椎的体节。(B) 一个野生型胚胎（左图）有正常的脊椎和正常的同源异形基因翻译。Rpl38 缺陷型小鼠有一对额外的脊椎，尾部畸形，同源异形基因的翻译降低（参考 Kondrashov et al. 2011）。

3.9.4　微 RNA：mRNA 翻译和转录的特异调节

如果一些蛋白质都能通过结合一些特定的核酸序列来阻止转录或翻译，你肯定会想到 RNA 会更好地完成这个工作，毕竟一个 RNA 能与一个特定的序列互补和结合。的确，调节特定信使 RNA 翻译的最有效手段之一就是合成一个与特定转录物互补的短反义 RNA。这种自然发生的反义 RNA 首次在线虫（*C. elegans*）中被发现（Lee et al. 1993；Wightman et al. 1993）。线虫的 *lin-4* 基因编码一个只有 21 个核苷酸的 RNA，能结合 *lin-14* 信使 RNA 的 3′ 非翻译区上的多个位点（图 3.31）。而 *lin-14* 基因编码 LIN-14 转录因子，在线虫发育的第一个幼体期有重要作用。后期的发育并不需要这个转录因子，所以线虫能用一个 *lin-4* 反义微 RNA 来抑制 LIN-14 从信使 RNA 上的合成。这个小的 *lin-4* 转录物与 *lin-14* 信使 RNA 的 3′ 非翻译区结合后引起 *lin-14* 信使 RNA 降解（Bagga et al. 2005）。

目前人们认为 *lin-4* 微 RNA 是一个**微 RNA**（**microRNA**，**miRNA**）大家族中的"创始成员"。对人类基因组的信息学分析，预测我们有 1000 多个微 RNA 基因座，这些微 RNA 在我们的体内有可能调节 50% 的蛋白质编码基因（Berezikov and Plasterk 2005；Friedman et al. 2009）。微 RNA 通常只有 22 个核苷酸，但却产生于很长的前体。这些前体可以来自不相关的转录单位（*lin-4* 基因与 *lin-14* 基因的距离相隔很远），或者处在其他基因的内含子中（Aravin et al. 2003；Lagos-Quintana et al. 2003）。初始的 RNA 转录物

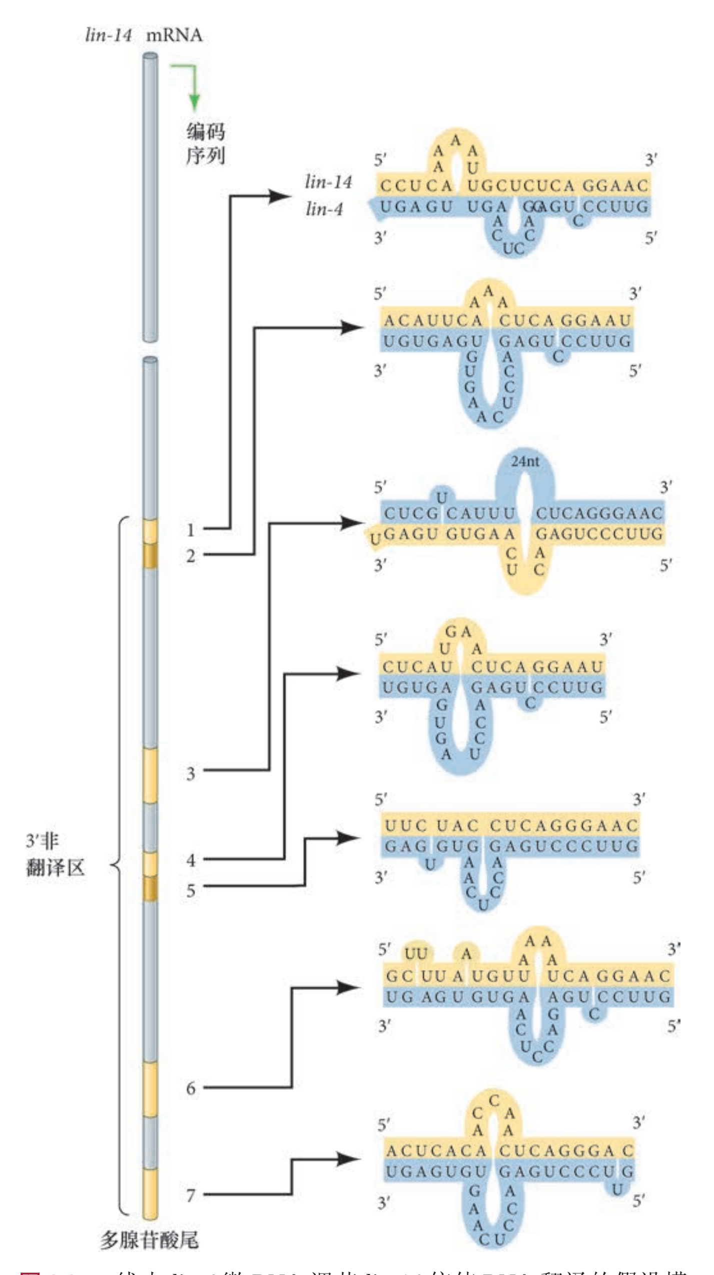


图 3.31 线虫 *lin-4* 微 RNA 调节 *lin-14* 信使 RNA 翻译的假设模型。*lin-4* 基因并不产生一个信使 RNA。相反地，它产生一些与 *lin-14* 信使 RNA 的 3′ 非翻译区的重复序列互补的微 RNA，这些微 RNA 与重复序列结合后抑制 mRNA 的翻译（参考 Wickens and Takayama 1995）。

（有可能包含多个重复的微 RNA 序列）形成一些发夹环，使 RNA 在同一条链上找到互补结构。因为短的双链 RNA 分子与致病的病毒基因组有相似性，所以细胞既有识别这些结构，也有利用它们为向导将其清除的机制（Wilson and Doudna 2013）。有意思的是，这个保护机制被借鉴后以另一种方式使用，也就是在细胞中差异性地调节内源基因的表达（Guo and Kemphues 1995；Sen and Blau 2006；Wilson and Doudna 2013）。通过微 RNA 降解它们结合的 mRNA 来抑制特定基因表达的方法称为 **RNA 干扰（RNA interference）**，这个方法的发现和完善使得安德鲁 • 法尔（Andrew Fire）和克雷格 • 梅洛（Craig Mello）获得了 2006 年的诺贝尔生理学或医学奖（Fire et al. 1998）。

微 RNA 的双链茎环结构被一组 RNA 酶（Drosha 和 Dicer）加工后产生单链的微 RNA（图 3.32）。单链微 RNA 被一系列的蛋白质包装，形成一个 **RNA 诱导沉默复合物（RNA-induced silencing complex，RISC）**。Argonaute 家族蛋白是这个复合物中的重要成员。这样形成的调节性微 RNA 能结合信使 RNA 的 3′ 非翻译区，抑制它们的翻译。在某些情况下（尤其是微 RNA 与 3′ 非翻译区的结合完全匹配），信使 RNA 会被降解。但在大多数情况下，一些 RNA 诱导沉默复合物附着在 3′ 非翻译区上，物理性地阻止信使 RNA 的翻译（Bartel 2004；He and Hannon 2004）。微 RNA 及其联结的 RNA 诱导沉默复合物与 3′ 非翻译区结合后，可以通过两种方式来调节翻译（Filipowicz et al. 2008）。首先，这个结合能阻断翻译的起始，阻止起始因子或核糖体结合 mRNA。例如，Argonaute 蛋白能结合信使 RNA 的 5′ 端甲基化鸟苷帽序列（Djuranovic et al. 2010，2011）。其次，这个结合能招募消化 mRNA 的内切核酸酶，而这通常是从多腺苷酸尾开始的（Guo et al. 2010）。后者看似在哺乳动物细胞中被普遍使用。

科学家讲座 3.5 Ken Kempues 博士的问答会。关注与第 4 个问题相关的跟踪问题，了解在线虫中对双链 RNA 的首次证明。

科学家讲座 3.6 克雷格 • 梅洛博士关于他发现 RNA 干扰而共享诺贝尔奖的问答会。

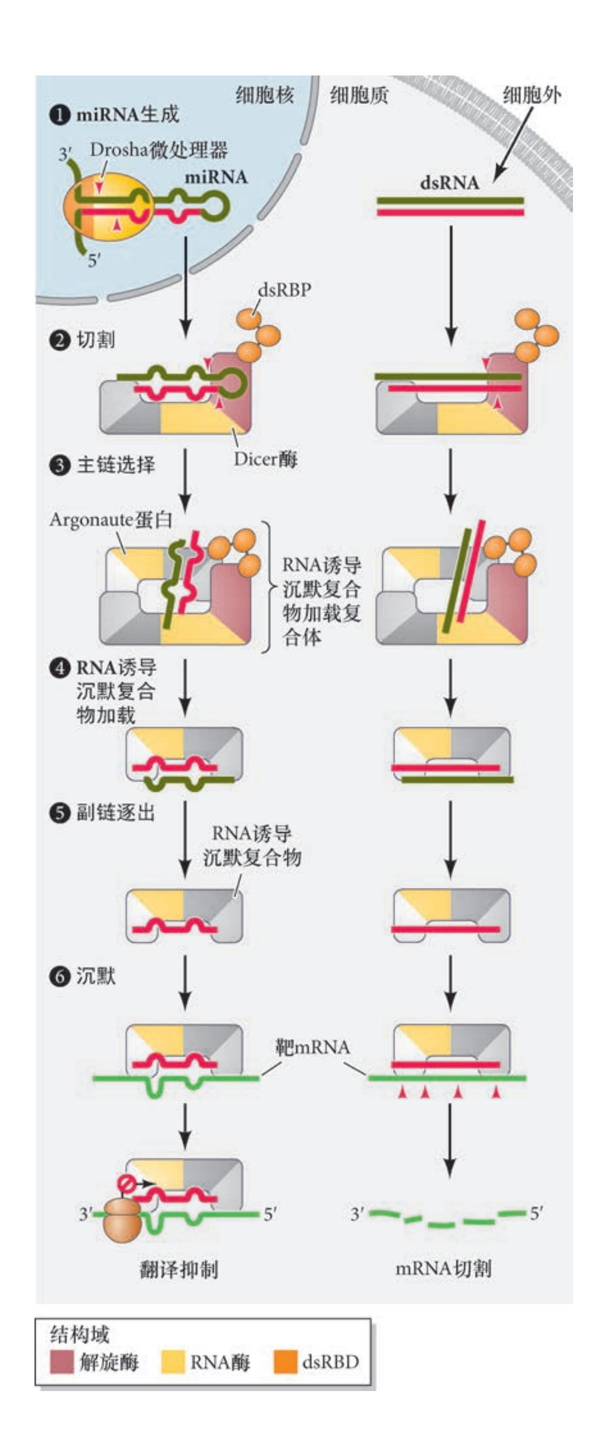


图 3.32　干扰小 RNA（siRNA）和微 RNA（miRNA）进行 RNA 干扰的模型。双链干扰小 RNA 或微 RNA 被导入细胞或由细胞通过转录而产生，然后被 Drosha 这一 RNA 酶加工①。加工后的双链 RNA（dsRNA）与 RNA 诱导沉默复合物（RISC）相作用。这个复合物主要由 Dicer 蛋白和 Argonaute 蛋白组成，它们把双链 RNA 调制成向导，作为干扰的靶向机制。具体来说：①干扰小 RNA 或微 RNA 转录后形成多个发夹区域，使 RNA 在同一条链上找到互补配对的碱基。这个初始的微 RNA 被 Drosha 加工成独立的前体微 RNA“发夹”，然后被转运出细胞核（干扰小 RNA 也受同样的方式处理）；②～④在细胞质中，这些双链 RNA 被含有 Argonaute 蛋白和 Dicer 酶的 RNA 诱导沉默复合物识别并结合；⑤ Dicer 也具有解旋酶的作用，将双链 RNA 分开；⑥一条链（有可能是 Dicer 定位所识别的那条链）将被用于结合靶 mRNA 的 3′ 非翻译区，阻断翻译或诱导靶转录物的切割，这（至少在一定程度上）取决于微 RNA 与靶 mRNA 互补配对的强度。干扰小 RNA 最显著的作用是靶向转录物的降解。dsRBP：双链 RNA 结合蛋白；dsRBD：双链 RNA 结合域（参考 He and Hannon 2004；Wilson and Doudna 2013）。

微 RNA 可被用于“打扫”基因产物和微调基因产物的水平。我们在前面提到卵母细胞中有支持早期发育的母体 RNA。在完成了它们的使命后，并且胚胎细胞已经开始合成自身的 mRNA 时，这些母体 RNA 如何被胚胎清除？在斑马鱼中，这个清理工作被分配给一些微 RNA，如 *miR430*，这是在斑马鱼胚胎细胞中首先转录的基因之一，在基因组中大约有 90 个拷贝。所以，*miR430* 转录物会很快地升高。它有几百个靶位点（大约 40% 的母体 RNA 类型），当它结合靶 mRNA 的 3′ 非翻译区时，这些 mRNA 就会失去它们的多腺苷酸尾并被降解（图 3.33；Giraldez et al. 2006；Giraldez 2010）。而且，*miR430* 还能在促进 mRNA 降解之前抑制翻译的起始（Bazzini et al. 2012）。

科学家讲座 3.7　Antonio Giraldez 关于 *miR430* 清除母体产物的问答会。

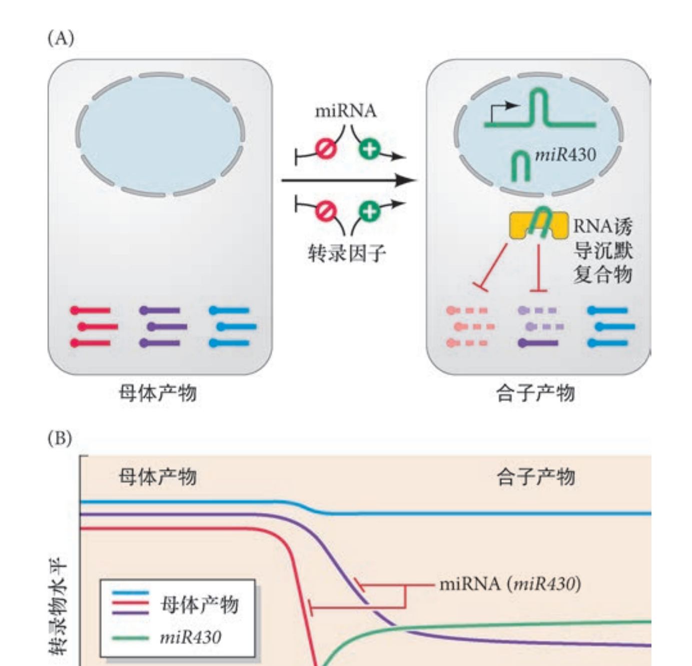


图 3.33 斑马鱼 *miR430* 在母体 - 合子转换过程中的作用。(A) 众多的母体 mRNA 在早期卵裂过程中支持发育过程，但过渡到原肠胚时需要合子基因组的活跃转录。微 RNA 在这个过渡过程中对清除母体转录物有主要的作用。(B) 斑马鱼囊胚过渡到合子调控时，*miR430* 对大部分母体转录物产生干扰。在这个图表中，不同的曲线代表三个特定转录物的下降，其中两个基因的转录物（紫色和红色）被 *miR430*（绿色）差异性地降解（参考 Giraldez 2010）。

尽管微 RNA 的长度只有 22 个碱基，它主要通过位于 5′ 端大约 5 个碱基的“种子”区（通常是第 2 ～ 7 个碱基）识别靶 mRNA。这个种子区识别位于 3′ 非翻译区的靶点。如果一个 mRNA 的 3′ 非翻译区发生一个突变会出现什么情况？这样一个突变产生了特塞尔（Texel）羊品系，具有肥大和公认良好的肌肉组织，是在欧洲占主要地位的肉用羊。遗传学技术将这个多肉表型的基础定位在肌生成抑制蛋白的基因。我们在前面已经看到，在肌生成抑制蛋白的基因上发生阻止核 RNA 正常剪接的突变后能产生多肌肉的表型（见图 3.26）。降低肌生成抑制蛋白水平的另一个方式是其 3′ 非翻译区的突变。在特塞尔品系的羊中，肌生成抑制蛋白基因的 3′ 非翻译区出现一个 G 到 A 的转变，产生了一个 *miR1* 和 *miR206* 的识别靶点，这两个微 RNA 在骨骼肌中的表达量很高（Clop et al. 2006）。因此，这个突变导致肌生成抑制蛋白的 mRNA 降低，使这种羊的肌肉量提高。

3.9.5 细胞质定位对 RNA 表达的调控

不仅 mRNA 翻译的时间受到调节，RNA 表达的位置也受到调控。大多数 mRNA（在果蝇中大约有 70%）定位在细胞的特定位置（Lécuyer et al. 2007）。与 mRNA 翻译的选择性抑制一样，信使 RNA 的选择性定位也受 3′ 非翻译区调节。一个 mRNA 的定位主要受三种机制调节（见 Palacios 2007）。

1. 扩散和局部锚定。一些信使 RNA，如 *nanos*，能在细胞质中自由扩散。但当它们扩散到果蝇卵母细胞的后极时，就会被定位在这个区域的一些蛋白质捕获。这些蛋白质也能激活 mRNA，使其翻译（**图 3.34A**）。
2. 局部保护。一些信使 RNA，如编码果蝇热激蛋白 hsp83 的 mRNA（其编码的蛋白质能保护胚胎免受高温度的影响），也能在细胞质中自由游荡。与 nanos 的 mRNA 一样，hsp83 的 mRNA 也在后极处积累，但机制却有所不同。它在整个胚胎中都被降解，但定位在后极的一些蛋白质能保护 hsp83 的 mRNA 不被降解（**图 3.34B**）。
3. 沿细胞骨架主动运输。主动运输很可能是 mRNA 定位的最普遍机制。在这个机制中，mRNA 的 3′ 非翻译区被一些蛋白质识别，然后这些蛋白质将信使 RNA 结合到“马达蛋白”，而马达蛋白能沿细胞骨架迁移到它们的最终目的地（**图 3.34C**）。马达蛋白通常是一些腺苷三磷酸酶，如动力蛋白和驱动蛋白，通过分解腺苷三磷酸而产生动力。我们在第 9 章将会看到，这个机制对一些转录因子的 mRNA 在果蝇卵母细胞不同区域的定位有重要作用。

网络话题 3.9 **脑细胞中的储存 mRNA** 局部翻译调节的最重要区域之一可能是脑。长期记忆的储存需要新蛋白的合成，在脑神经元树突上局部翻译的一些 mRNA 被认为是增强突触连接强度的控制点。

(A) 扩散和局部锚定

前端

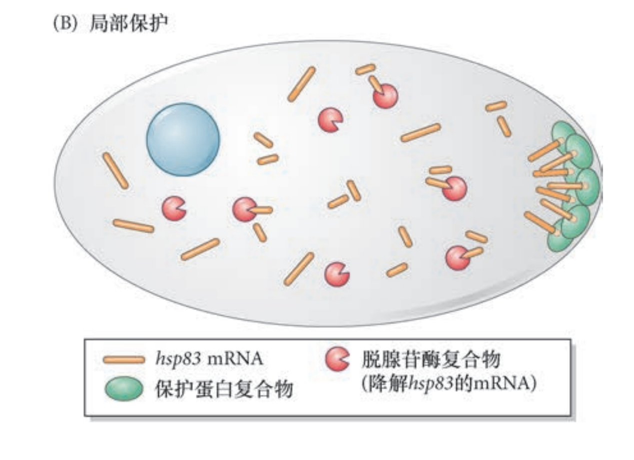
后端

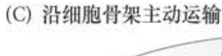
细胞核

nanos 的mRNA被翻译

nanos RNA

锚定物





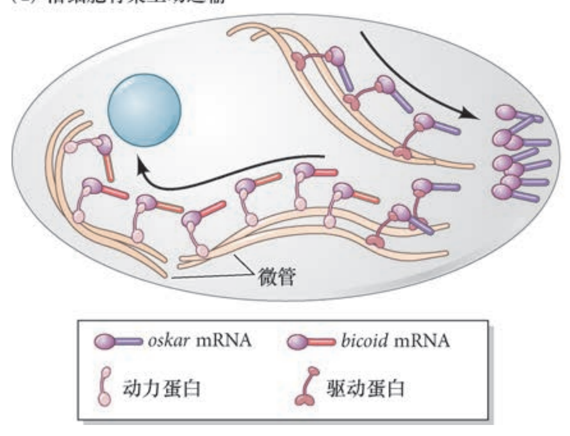


图 3.34　一些 mRNA 的定位。(A) 扩散和局部锚定。果蝇 *nanos* 的 mRNA 在卵母细胞中扩散并在卵母细胞的后端受到结合（部分地受 Oskar 蛋白结合）。在后端被锚定后，*nanos* 的 mRNA 被翻译。(B) 局部保护。果蝇热激蛋白 (hsp83) 的 mRNA 如果不被一个保护蛋白予以保护，就会被降解（这个保护也是发生在卵母细胞的后端）。(C) 在细胞骨架上的主动运输使 mRNA 积累在特定的位置。这里的一个例子是 *bicoid* 的 mRNA 被动力蛋白和驱动蛋白这两个马达蛋白运输到卵母细胞的前端。同时，*oskar* 的 mRNA 也被驱动蛋白这个腺苷三磷酸酶沿微管运输到卵母细胞的后极（参考 Palacios 2007）。

3.10　基因表达的翻译后调节

我们的故事在蛋白质合成后并没有结束。一个蛋白质被制造出来后就成为一个更高的组织水平的一部分。例如，它可以成为细胞结构框架的一部分，或者参与到很多合成或降解细胞代谢物的酶途径之一。无论如何，每个蛋白质都会变成一个复杂的“生态系统”中的一员，与众多的其他蛋白质建立密切关系。还有多种变化能决定一个蛋白质是否具有活性。

一些新合成的蛋白质在某些抑制性部分没有被清除之前仍处于无活性状态。胰岛素从一个大的蛋白前体合成出来时就是这种情况。某些蛋白质必须被“邮寄”到它们在细胞内的特定“地址”后才能发挥功能。一些蛋白质经常被滞留在细胞的特定区域，如细胞膜、溶酶体、细胞核、线粒体等。另一些蛋白质需要与其他蛋白质组装成一个功能单元，如血红蛋白、微管、核糖体等都是多个蛋白质结合在一起后形成一个功能单元。还有，一些蛋白质需要结合一个离子（如 Ca^{2+}），或共价结合一个磷酸或乙酸基团被修饰后才能有活性。这些蛋白质修饰方式的重要性在第 4 章会提到，因为胚胎细胞的很多关键蛋白就在某一个位置等待激活它们的一些信号。最后，即使一个蛋白质被活跃翻译并准备发挥功能，细胞也可以立刻将它运送到蛋白酶体去降解。为什么一个细胞消耗能量合成一个蛋白质只是为了去降解它？如果一个细胞需要一个蛋白质在精确的时间内快速地发挥功能，那么，它就会认为自己值得去消耗这些能量。例如，一个神经元在寻找它的突触靶点时，通过一个称为轴突导向的过程延伸出很长的轴突（这将在第 15 章描述）。正在寻径的神经元合成一些受体蛋白并立即将其降解，直到细胞到达一个能给予它方向性选择的环境。在这个位置的一些信号使细胞停止对受体蛋白的降解，使这些受体被转运到细胞膜，迅速发挥将轴突导向至靶点的功能。

我们在这一章讨论的所有过程（组蛋白修饰、转录因子相互作用、RNA 聚合酶 II 与启动子结合、

mRNA 延伸、RNA 剪接动力学、mRNA 半衰期）都是随机的事件。它们都取决于作用蛋白的浓度（Cacace et al. 2012；Murugan and Kreiman 2012；Costa et al. 2013；Neuert et al. 2013）。因此，每个生物都是一个受到互作协调的独特“作品”，这些互作通知每个细胞哪些基因可以表达、哪些基因需要保持沉默。在第 4 章，我们将详细描述细胞之间通过信息传递来调节差异性基因表达的机制。

3.11　发育遗传学研究的基本方法

3.11.1　描述基因的表达

差异的基因转录对发育过程至关重要。要想了解基因在特定时间和特定位置的表达，人们需要使用一些手段来确定一个特定的信使 RNA 或蛋白质在细胞中的位置。这些技术包括 RNA 印迹、反转录 - 聚合酶链反应（RT-PCR）、原位杂交、转录物微阵列技术、蛋白质印迹、免疫细胞化学。为了确定基因的功能，研究人员现在使用了一些新技术，如 CRISPR/Cas9（成簇的规律间隔短回文重复序列 /Cas9 核酸酶）介导的基因敲除、反义核苷酸、RNA 干扰、**吗啉反义寡核苷酸**（**morpholino**）敲减、Cre-lox（Cre 重组酶 -loxP 系统）分析（在特定细胞中合成或去除信使 RNA）、染色质免疫沉淀及测序（鉴别结合在特定 DNA 序列和活跃染色质上的蛋白质）。另外，通过微阵列、大阵列和转录组测序技术的“高通量”RNA 分析使得研究人员能够对几千个 mRNA 进行比较，计算机辅助的虚拟手段能预测蛋白质和 mRNA 之间的互作。对大部分这些方法的描述可见于 devbio.com。另外，我们也将在下面描述一些最常用的实验技术。

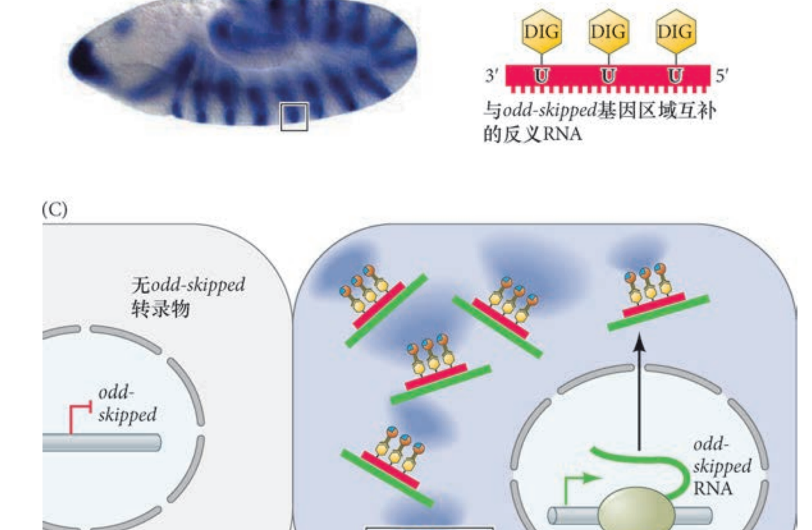


图 3.35　原位杂交。(A) 第 9 期果蝇胚胎中 *odd-skipped* 的 mRNA（蓝色）的整体原位杂交。(B) 反义 RNA 探针上的尿嘧啶与地高辛 (DIG) 偶联。(C) 图解显示位于 *odd-skipped* 表达图式边缘的两个细胞（A 图中的框）。地高辛标记的反义探针与 *odd-skipped* 的 mRNA 互补，两者在任何表达 *odd-skipped* 转录物的细胞中杂交。左侧的细胞不表达 *odd-skipped* 的 mRNA，而右侧表达 *odd-skipped* 的细胞被蓝色沉淀显示出来。氮蓝四唑 (NBT) 和 5- 溴 -4- 氯 -3- 吲哚基 - 磷酸 (BCIP) 通常被用来作为产生这种蓝色沉淀的底物。在探针杂交后，偶联了碱性磷酸酶的地高辛抗体被用来催化 NBT/BCIP 反应，产生只有在 *odd-skipped* 表达位置才出现的蓝色沉淀（A 图来自 So and Danielian 1999）。

原位杂交　**整体原位杂交**（**whole mount *in situ* hybridization**）利用整个胚胎（或胚胎的一部分）来检测一些 mRNA 的表达。这个方法的主要原理是利用 mRNA 的单链特性，在细胞中导入一个互补配对的序列将靶 mRNA 显示出来。这个技术应用一些染料使得研究人员能观察整个胚胎，而不需要对胚胎进行切片，这样就可以直接在胚胎中观察基因表达和不表达的区域。图 3.35A 显示了一个在固定的果蝇整体胚胎中针对 *odd-skipped* 的 mRNA 的**原位**（*in situ*）杂交。首先需要合成一个检测 mRNA 的探针，即原位杂交探针。这个探针是一个反义的 RNA 分子，其长度通常是

200 ～ 2000 个碱基。最重要的是这个反义 RNA 链上的尿苷三磷酸（UTP）被偶联了地高辛（图 3.35B）。地高辛是一种在某些特定植物中合成的化合物，在动物细胞中不存在。它不干扰 mRNA 的编码特性，但能将被标记的 mRNA 与细胞中的其他所有 RNA 区分出来。在这个过程中，胚胎首先被脂质溶剂和蛋白酶通透，使探针能够进出细胞。进入细胞后，反义的探针 RNA 与靶 mRNA 之间就会进行杂交。为了能观察到发生这种杂交的细胞，研究人员还需要使用一个特异识别地高辛的抗体。这个抗体被人工偶联了一个酶，如碱性磷酸酶。与抗体孵育和反复洗脱以去除未结合的抗体后，胚胎就被浸在含有酶底物的溶液中（碱性磷酸酶的底物通常是 NTB/BCIP），这样酶就能将底物转化成一个有颜色的产物。这个酶只能在有地高辛的地方出现，而地高辛也只能在有特异互补 mRNA 的地方出现。因此，在图 3.35C 中，酶促反应所产生的暗蓝色沉淀就显示出靶 mRNA 的存在。

染色质免疫沉淀及测序（ChIP-Seq） ChIP-Seq 建立在两个高度特异的相互作用之上。第一个是一个转录因子或一个被修饰的核小体与特定 DNA 序列（如一个增强子元件）的结合，另一个是抗体分子与所研究的转录因子或核小体的特异结合（图 3.36；Liu et al. 2010）。

ChIP-Seq 的第一步是提取染色质，然后使蛋白质与它们所结合的 DNA 交联（通常使用戊二醛或甲醛作为交联剂）。这个过程阻止核小体或转录因子从 DNA 上分离。交联后，DNA 被打碎成一些大约为 500 个碱基的片段（一般通过超声处理，但有时也用酶处理）。下一步是用特异的抗体与特定的蛋白质结合。的确，很多抗体是非常特异的，例如，一个识别第 4 位氨基酸上二甲基化的组蛋白 H3 抗体不能识别同样位置上三甲基化的组蛋白 H3。然后通过沉淀将这些抗体与液体分离（通常使用结合抗体的磁珠），这样，抗体就会将与蛋白质结合的 DNA 片段带到试管的底部。将 DNA 片段与蛋白质分离，然后扩增和测序，这样得到的序列可以被定位在整个基因组。以这种方式，特定转录因子或具有组蛋白修饰的核小体所特异结合的 DNA 序列就能被准确地鉴定出来。如你们在全文中都能看到的那样，研究人员利用这些被鉴定出来的增强子区域构建转基因报道载体和生物，在细胞和生物体中观察基因的表达。

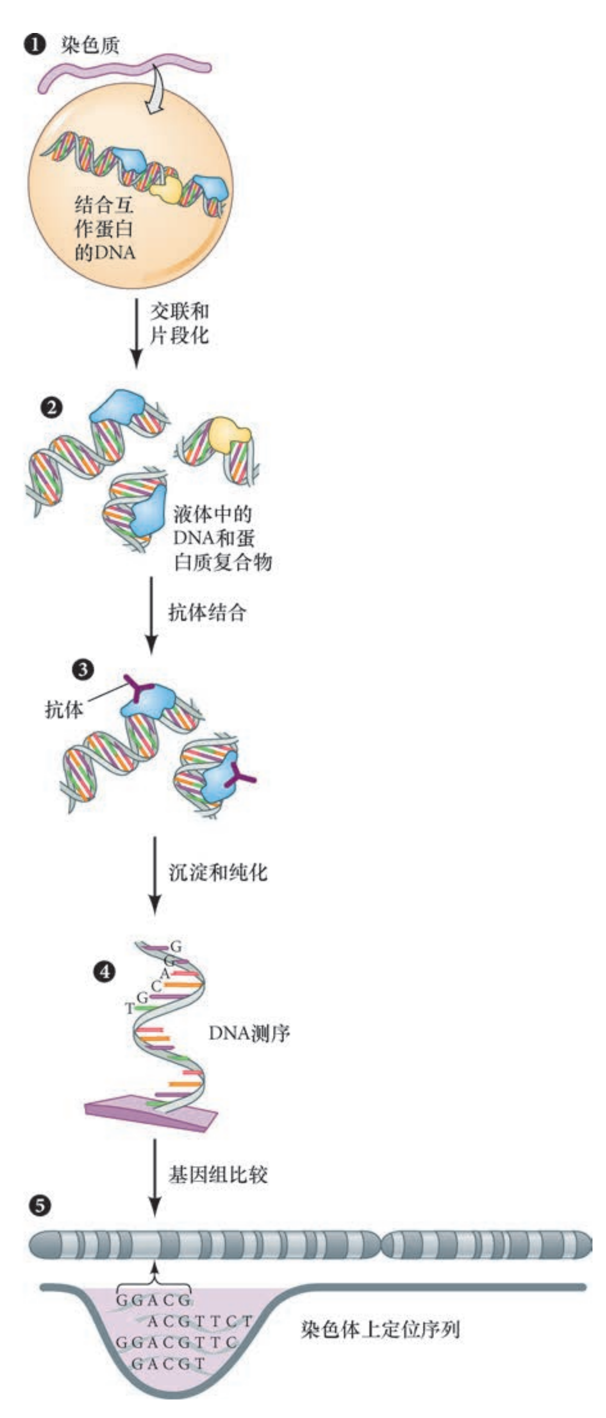


图 3.36 染色质免疫沉淀及测序（ChIP-Seq）。从细胞核中提取染色质。染色质上的蛋白质被交联在它们的结合位点，然后 DNA 被打碎成小片段。抗体与特异的染色质蛋白结合后被沉淀。沉淀复合物中的 DNA 片段被纯化和测序。将得到的序列与基因组序列比较，这样就可以知道蛋白质所调节的基因及其准确的结合位点（参考 Szalkowski and Schmid 2011）。

深度测序：转录组测序 我们在这一章强调，一个细胞所表达的所有基因构成了控制细胞特性的基因调控网络。测序技术的重大改进使人们能够对整个基因组进行测序，但是基因组并不等于一个细胞的

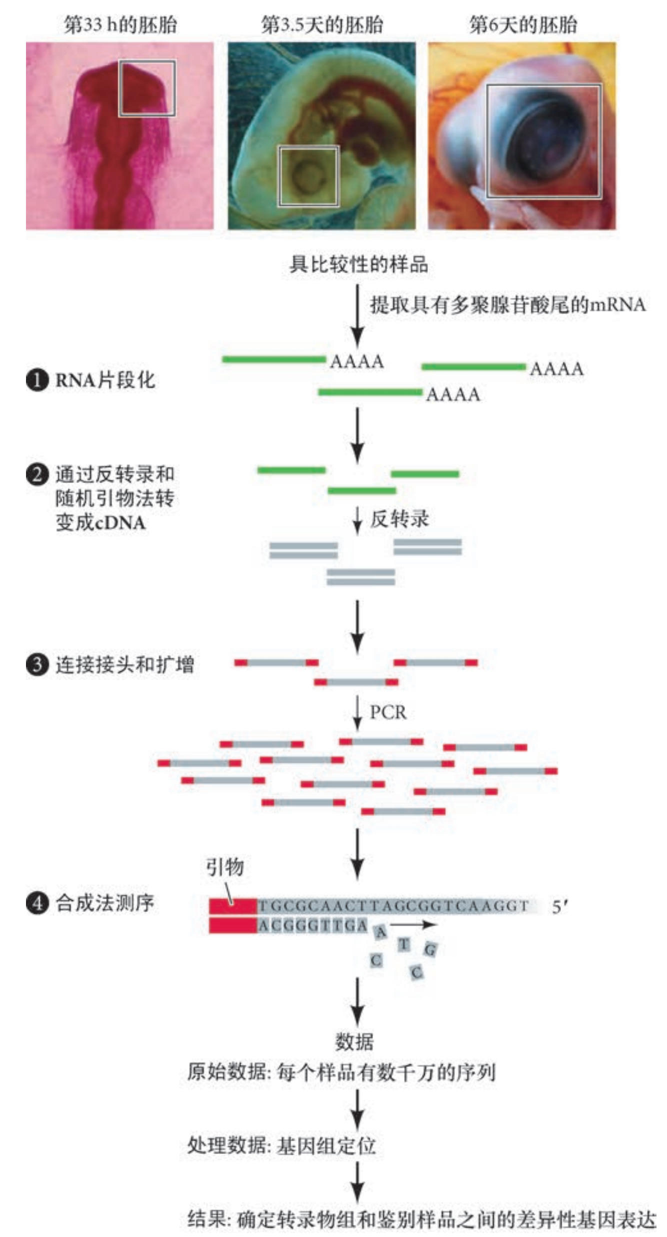


图 3.37 深度测序：转录组测序。（上部）研究人员选择特定类型的组织，通常是比较不同条件，如不同时期的胚胎（如图中显示的鸡胚胎）、分离的组织（如眼；加框的区域）或单个细胞、不同基因型的样品或一些实验范例。①提取 RNA，得到活跃表达的基因的转录物；②这些转录物被片段化，用反转录酶合成 cDNA；③将特殊的接头连接在 cDNA 末端进行 PCR 扩增；④随后的测序（参考 Goldman and Domschke 2014；Malone and Oliver 2011；左侧照片为 Ed Reschke/Getty Images 版权所有；中间和右侧的照片为 Oxford Scientific/Getty Images 版权所有）。

转录物组。为了能够鉴别一个胚胎、一个组织、甚至是一个细胞中的转录物，人们研发出了**转录组测序**（**RNA-Seq**）。它利用二代测序技术中高通量特性的优势，对一个细胞中的 RNA 进行测序和定量（图 3.37）。具体而言，将从样品中提取的 RNA 用反转录酶以标准的方法转变成互补的 DNA（cDNA）。将 cDNA 打碎成小片段后，再将已知的接头序列连接到 cDNA 的末端。这些接头将被作为引物用于转录物的扩增。二代测序方法可以分析这些转录物的序列和含量（Goldman and Domschke 2014）。在只有特定实验参数存在差异的相同样品之间比较转录物组时，转录组测序技术已经成为一个强有力的手段。人们不禁要问，位于胚胎不同区域的组织，或不同发育时期的相同组织，或被一个特定化合物处理和没有被处理的相同组织，它们之间的转录物有什么差别？这些比较对于转录组差异所具有的潜力和能使我们掌握的信息来说只是蜻蜓点水。荧光激活细胞分选法（通常简称为 FACS）的出现及显微切割术使人们能够精确地分离一些组织和一些细胞，况且，近来转录组测序敏感度的提高使人们能够检测单细胞的转录物组。

一个常见的实验方法是设计一个有针对性的深度测序实验，得到与一个特定条件有关联的一组基因。然后研究人员利用生物信息学和发育生物学知识选择一些候选基因，检测它们在生物体内的功能。

3.12 检测基因功能

发育生物学家使用一系列去除基因的方法以确定基因的功能。这些方法可以被分成两类：正向遗传学和反向遗传学。在**正向遗传学**（**forward genetics**）方法中，一个生物被一种诱变剂处理后，引起无偏倚性和随机性的突变，然后筛选一些影响发育的表型。每种突变可以通过纯合子维持，如果这种突变严重影响胚胎的存活，则可以通过杂合子维持。通常是对表型进行初步分析后再确定突变基因座的身份。两个重要的正向遗传学诱变筛选是 Christiane Nüsslein-Volhard 及其同事在果蝇和斑马鱼中完成的（Nüsslein-Volhard and Wieschaus 1980，1996；*Development* 杂志有一期专门报道斑马鱼的突变筛选）。这些筛选对一些基因和信号途径的鉴定及功能分析做出了巨大的贡献，现在我们已知这些基因和信号途径对发育和疾病都有重要作用。

与正向遗传学相反，在**反向遗传学**（**reverse genetics**）中，你脑子里已经有一个你所关注的基因，然后再去敲减或敲除那个基因的表达。使用基因特异的核糖核酸干扰（RNAi）或吗啉反义寡核苷酸（morpholino），你可以靶向这个 mRNA 的降解，或者阻断它的剪接或翻译（见图 3.32）。这些手段能抑制基因的功能，但不是那么彻底，并且有时间的局限性，因为 RNAi 或吗啉反义寡核苷酸在发育过程中会被稀释和降解（所以是“敲减”而不是“敲除”）。不过，研究人员也可以利用这个优势，用不同量的 RNAi 或吗啉反义寡核苷酸进行剂量效应分析。

另一方面，靶向基因敲除的优势是彻底去除靶基因的功能。这种基因的根除能在小鼠中很有效地完成。研究人员将一个称为新霉素盒的载体以同源重组的方式插入到胚胎干细胞中的一个特定基因。这个插入既能使基因突变，也能提供一个鉴定突变细胞的抗生素选择机制。这些具有抗性的细胞被注射到胚泡，然后胚泡发育成具有部分突变细胞的嵌合鼠。通过继续繁殖这些小鼠就能得到基因功能完全缺失的纯合突变体[18]。

CRISPR/Cas9 基因组编辑技术 这个技术对遗传学研究已经产生了巨大的影响，使得基因编辑比以前更快捷和更便宜，把从大肠杆菌到灵长类的基因编辑变得更简单（Jansen et al. 2002）。这个技术应用了自然发生在原核生物中抵御入侵病毒的一个防御体系（Barrangou et al. 2007）。在原核生物中，CRISPR（clustered regularly interspaced short palindromic repeat，成簇的规律间隔短回文重复序列）是一段 DNA 序列，在这个序列上有一些短的区域，当它们被转录成 RNA 时，能作为向导（短的向导 RNA 或 sgRNA）来识别病毒的 DNA 片段。这个向导 RNA 还能结合一个内切核酸酶，称为 Cas9（CRISPR 结合酶 -9）。当 sgRNA 与病毒 DNA 结合后，Cas9 也被向导 RNA 带过来，这样 Cas9 就在外源 DNA 上催化双链断裂，使病毒失效。

加利福尼亚大学伯克利分校 Jennifer Doudna 实验室和瑞士弗雷德里希 - 米歇尔研究所 Emmanuelle Charpentier 实验室的研究人员想知道，如果 sgRNA 能识别病毒的特定序列，那么它是否可以被改造而用于识别任何基因；我们是否能制造一个 CRISPR/Cas9 单元，使得它在任何物种中靶向任何基因，使其失效？在 2012 年，这些研究人员非常明确地证明了这个问题的答案是：行（Jinek et al. 2012）。当一个基因特异的 CRISPR 向导 RNA 与 Cas9 一起被导入细胞后，Cas9 蛋白被 CRISPR 带到向导 RNA 结合的位置，引起 DNA 的双链断裂。这个技术非常有效地引起基因突变（**图 3.38**）。细胞会自然地通过一个称为非同源末端连接（NHEJ）的过程试图修复双链断裂。这个过程能迅速地重新连接 DNA，避免灾难性的 DNA 损伤。但是，非同源末端连接介导的修复经常是不完美的，会导致**得失位**（**indel**），即 DNA 碱基的插入或缺失。不管这个得失位是一种插入还是一种缺失，都有很大的概率会使基因产生移码，在突变位点下游的某个位置出现一个提前终止的密码子，因此会导致基因功能的丧失[19]。

CRISPR/Cas9 系统已经被成功地应用于很多物种，包括果蝇、斑马鱼、小鼠，达到超过 80% 的突变率（Bassett et al. 2013）。研究人员甚至将 CRISPR 系统更推进了一步，用多个 sgRNA 同时靶向几个基因，获得双敲除和三敲除突变体。另外，还可以给 CRISPR/Cas9 加上短的 DNA 片段，利用这个系统精确地编辑一个基因组。这些片段经改造后使它们的 5′ 端和 3′ 端含有序列同源性，能在双链断裂的侧缘促进同源重组（图 3.38）。在人类，这种同源重组修复的方法已被用于修复已知的突变位点，具有治疗很多遗传疾病的潜能，如肌肉萎缩症（Nelson 2015）。最后，近来这个技术被进一步改进，用不能引起双链断裂的失活 Cas9 蛋白导入一个与它融合的蛋白质。例如，绿色荧光蛋白与失活的 Cas9 蛋白融合后使人们能够更好地观察活细胞中的染色质结构。CRISPR/Cas9 系统是一个跨物种的、具有广泛应用前途的基因组编辑技术，既能促进科学研究，也有助于实现基因治疗的目标。它的直接优点之一就是在所有物种都能成功使用。

---

[18] 关于这方面和其他方面的功能缺失方法的细节可查询 devbio.com。

[19] 锌指核酸酶（ZFN）和转录激活因子样效应物核酸酶（TALEN）也是一些在准确位点产生 DNA 双链断裂的方法。CRISPR 与 ZFN 和 TALEN 的差别是它如何识别基因靶点。ZFN 和 TALEN 都使用可识别基因的蛋白质和 DNA 结合域，并且非常特异。但是，准确构建一套与核酸酶活性同框的人工蛋白质区域既不轻松，也比较昂贵。

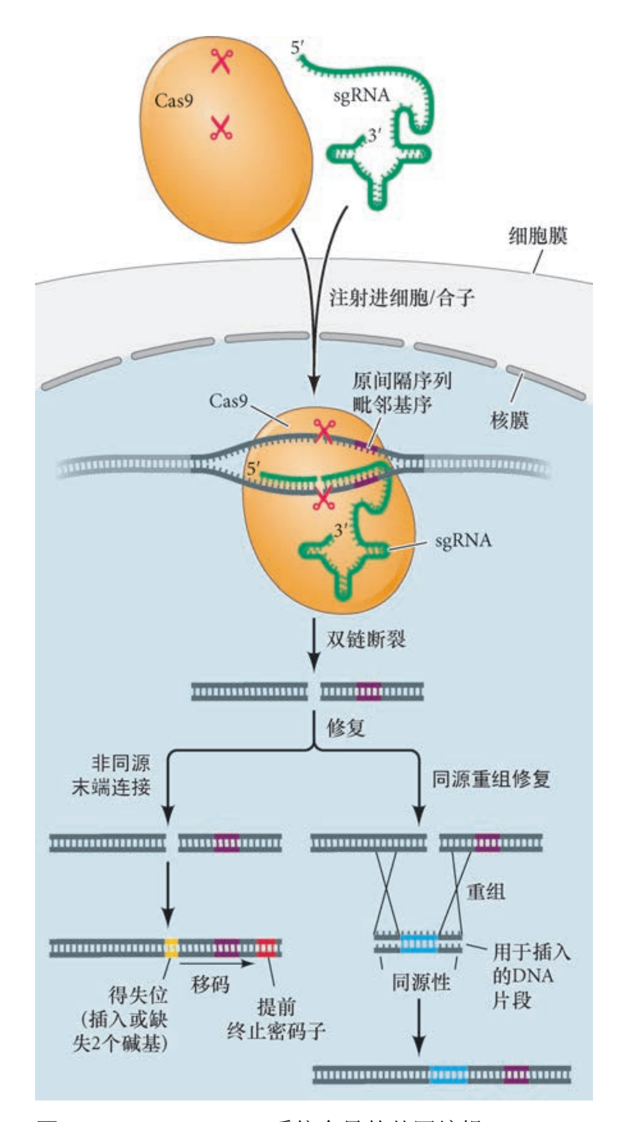


图 3.38　CRISPR/Cas9 系统介导的基因编辑。CRISPR/Cas9 系统在一个基因中靶向得失位的形成或产生插入诱变。设计一个基因特异的“短向导 RNA”(sgRNA)并与 Cas9 核酸酶一起注射到受精卵。向导 RNA 与基因组的互补序列结合并将 Cas9 招募到这个位点，诱导产生双链断裂。非同源末端连接（NHEJ）是细胞中的 DNA 修复机制，它经常导致一些小的插入或缺失（大约 2 ～ 30 个碱基对），这会产生一个提前终止的密码子，造成潜在的蛋白质功能缺失。另外，插入一个与 sgRNA 靶位点周围序列具有同源性的质粒能促进已知序列的整合。这个方法正在被尝试作为修复突变的方式。

这个通用性使人们能在一些物种中开展基因功能的分析，而在这之前遗传学研究手段对于这些物种来说一直都是一个不可逾越的障碍。

GAL4-UAS 系统　这个遗传学技术最重要的应用之一就是激活调节性基因（如 *Pax6*）的异位表达。主要原理是利用组织特异性表达的酵母 GAL4 转录因子诱导位于 UAS（上游激活序列）下游的基因的表达。在果蝇胚胎，Halder 及其同事（1995）将编码酵母 GAL4 转录激活蛋白的基因融合在一个增强子的下游，这个增强子在唇成虫盘中发挥功能（果蝇幼体形成口器的部分）。换句话说，GAL4 转录因子基因处在一些正常表达于颌的基因的增强子后面。因此，GAL4 应该在发育的颌组织中表达。然后，Halder 及其同事构建了第二个转基因果蝇，将果蝇的 *Pax6* 调控基因的 cDNA 融合在 5 个 GAL4 结合位点序列（UAS）的下游。这样，GAL4 蛋白应该只在注定要变成颌的一些细胞中表达，并且 GAL4 蛋白表达后，它就会在那些细胞中激活 *Pax6* 的转录（图 3.39A）。Pax6 蛋白异位表达在果蝇胚胎的早期颌细胞时，颌的一部分就形成了眼（图 3.39B）。在果蝇和蛙（但不在小鼠中），*Pax6* 也能将多个组织转变成眼（Chow et al. 1999）。看来在果蝇中 *Pax6* 不但能激活一些与眼形成相关的基因，也能抑制一些与其他器官形成相关的基因。

Cre-lox 系统　增强子的一个重要的实验用途就是在一些细胞中条件性地去除基因的表达。例如，肝细胞核因子 -4α（Hnf4α）在肝细胞中表达，在肝形成前，它也表达在卵黄囊的脏壁内胚层。如果这个基因在小鼠胚胎中被敲除，那么小鼠在肝形成前就不能存活。所以，如果你想研究这个基因在肝中的功能就必须制作一个条件性突变；也就是说，这个突变只发生在肝细胞，而其他任何细胞都不会有突变。那么你需要怎么做？Parviz 及其同事（2002）通过一个称为 Cre-lox 的位点特异重组酶技术解决了这个问题。

Cre-lox 技术使用同源重组的方式将两个 Cre 重组酶的识别位点（*loxP* 序列，噬菌体 P1 中的交换基因座）导入目的基因，通常位于一些重要外显子的侧缘（见 Kwan 2002）。这样，一个基因就“被 *loxP* 侧守”（“floxed”）。例如，使用培养的小鼠胚胎干细胞（ES），Parviz 及其同事（2002）将两个 *loxP* 序列导入小鼠的 *Hnf4α* 基因的第二个外显子周围（图 3.40）。这些胚胎干细胞被用来制备具有 *loxP* 侧守的 *Hnf4α* 等位基因的小鼠。然后在另一个品系的小鼠中导入编码噬菌体 Cre 重组酶的基因（这个酶识别 *loxP* 序列），而在肝早期发育中表达的清蛋白基因的启动子被用于调控 Cre 重组酶基因的表达。因此，在小鼠发育过程中，Cre 重组酶只在肝细胞表达。对两个品系的小鼠进行杂交后，一些后代就会同时携带 Cre 重组酶基因和 *loxP* 序列。在这些小鼠中，Cre 重组酶（只在肝细胞中表达）结合到 *Hnf4α* 基因第二个外显子侧缘的识别位点（*loxP*

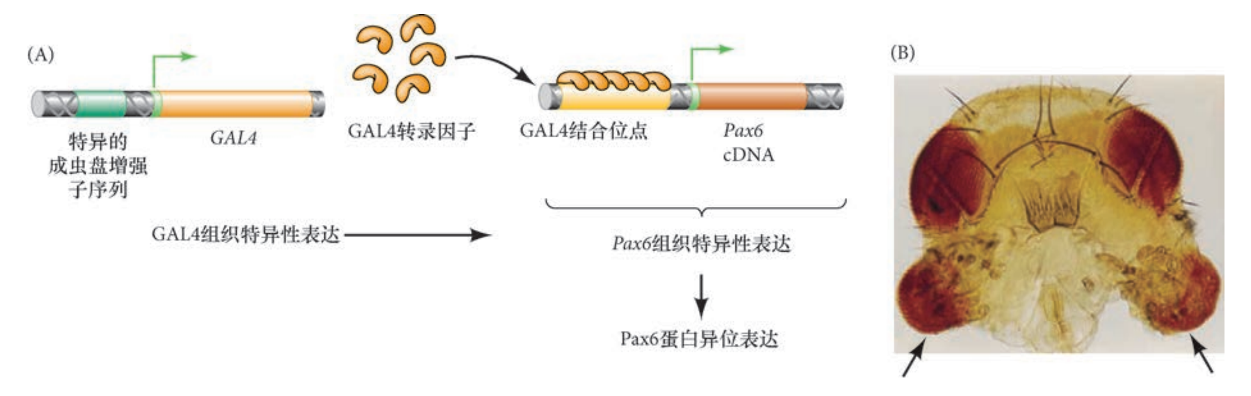
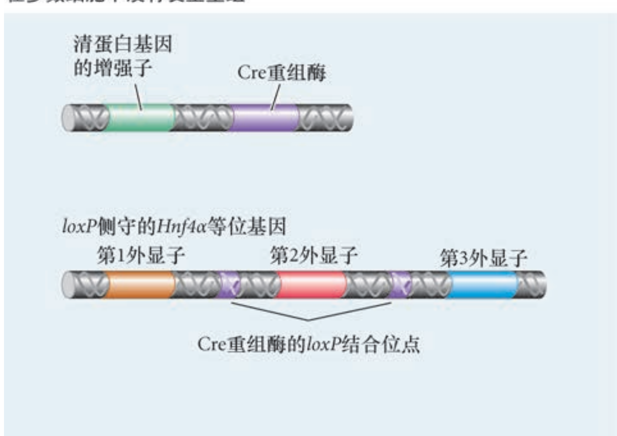


图 3.39　在果蝇的眼成虫盘以外的成虫盘中靶向 *Pax6* 基因的表达。(A) 构建一个果蝇的品系，将酵母的 GAL4 转录因子基因与在口器成虫盘中具有活性的基因的增强子融合。如果胚胎也具有一个将 *Pax6* 基因融合到 GAL4 结合位点 (UAS) 下游的转基因，*Pax6* 就会表达在任何有 GAL4 蛋白的成虫盘。(B) 当 *Pax6* 基因异位表达在唇（颌）成虫盘时，果蝇的小眼（复眼）就在口器处形成（照片由 W. Gehring 和 G. Halder 提供）。



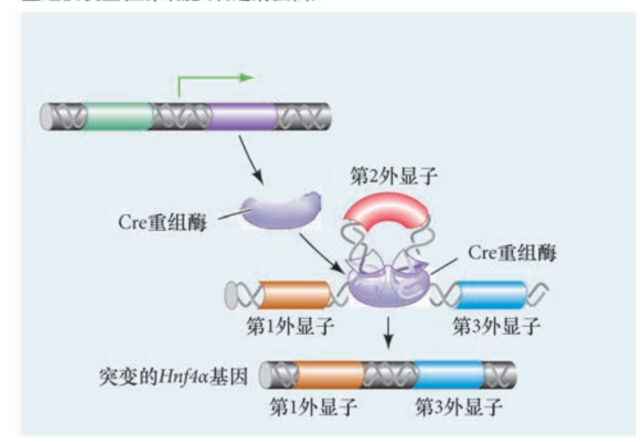


图 3.40　条件性诱变的 Cre-lox 系统，这种方式使基因突变只发生在特定的细胞。在一个品系的小鼠中，野生型等位基因（这里是编码 Hnf4α 转录因子的基因）被第 2 个外显子两侧有 *loxP* 序列的等位基因取代。将这个品系的小鼠与含有 Cre 重组酶的小鼠杂交。Cre 重组酶受控于在特定细胞中有活性的启动子，这里显示的是在肝早期发育中起作用的清蛋白基因的启动子。在两个等位基因都被改变的小鼠中，Cre 重组酶只在启动子被激活的细胞中表达（即表达清蛋白的细胞）。Cre 重组酶结合到位于第 2 个外显子两侧的 *loxP* 序列后将这个外显子删除。因此，如图所示，只有发育的肝细胞缺失有功能的 *Hnf4α* 基因。

序列），行使重组酶的功能，将第二个外显子删除。因为这个外显子对 *Hnf4α* 基因的功能至关重要，缺失这个外显子的 DNA 将编码一个没有功能的蛋白质。因此，*Hnf4α* 基因只是在肝细胞中被“敲除”。

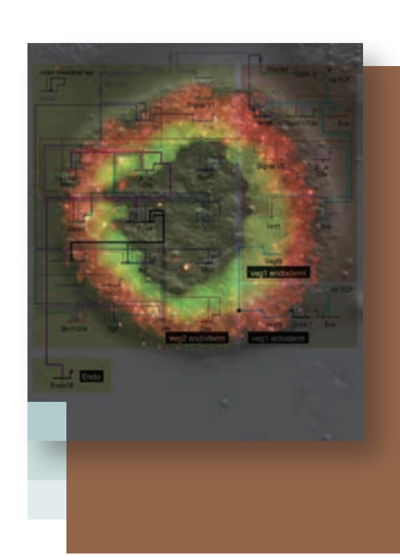
Cre-lox 系统能在时间和空间上控制基因的敲除与基因的异常表达。研究人员还能在基因中插入一个被 *loxP* 侧守的终止密码子，这样，在 Cre 重组酶将终止密码子删除之前可以阻止一个特定基因的转录。而且，Cre 重组酶的表达可以通过一个对他莫昔芬 (tamoxifen) 敏感的雌激素反应元件在时间上予以严格的控制。这种方式的调控使得研究人员导入一些特定蛋白的基因后（如 GFP 报道蛋白），将它们维持在不活跃状态，而在特定时间用他莫昔芬处理后将它们激活。

网络话题 3.10　**RNA 和 DNA 分析技术**　熟悉各种常用的发育遗传学方法的更多细节。

下一步的研究

在这一章，我们认识到各种活性蛋白的共同作用赋予了一个细胞的表型和特征。我们也讨论了产生

这些特征所需要的各种基因调控机制。我们能用这些知识做什么？如果每一种细胞类型都受控于它所表达的基因调控网络，那么，在实验室里能否只通过配置一个这样的网络就可以造出任何细胞类型？位于一个细胞周边的那些细胞对维持这个细胞中的基因调控网络和它随后的命运有多重要？从一个细胞到一个组织，然后到一个生物体，最后到一个物种，差异性基因表达的机制如何产生不同的形态？这些问题可以适用于你关注的细胞类型和物种。例如，需要采取什么手段在体外产生，或在脑中再生那些能修复帕金森病中有缺陷的多巴胺分泌神经元？如果你比较一下人类和非人灵长类肢芽细胞的转录物组，你会得到哪些进化上的领悟？





开篇图的思考

细胞分化的机制是什么？这里是一个受精后 24 h 的海胆胚胎中不同细胞差异性表达 *hox11/13b* 和 *foxa* 的图片。图中标示了决定内胚层发育的基因调控网络。这个网络体现了基因之间的组合性互作，以建立特定阵列的差异性表达基因。这种类型的网络利用了本章所讨论的多种分子机制来调控基因的表达，最终对一个特定细胞的特征予以综合性的限定。谨以此章献给 Eric H. Davidson 博士，以及他在发育生物学领域所作出的重要贡献（照片来自 I. Peter and E. Davidson 2011）。

3 要点总结

差异性基因表达

1. 分子生物学、细胞生物学、体细胞核克隆的证据显示，身体上的每个细胞（只有少数例外）携带相同的基因组。
2. 一些遗传等同的细胞核的差异性基因表达产生不同的细胞类型。差异性基因表达能发生在基因转录、核 RNA 加工、mRNA 翻译、蛋白质修饰等水平。请注意，RNA 的加工可以发生在转录过程中。
3. 染色质由 DNA 和蛋白质组成。组蛋白形成核小体，组蛋白上特定残基的甲基化和乙酰化能激活或抑制基因的转录。
4. 组蛋白甲基化通常用于沉默基因的表达。组蛋白能被组蛋白甲基转移酶甲基化，以及被组蛋白脱甲基酶去甲基化。
5. 乙酰化的组蛋白通常与活跃的基因表达相关联。组蛋白乙酰转移酶为组蛋白添加乙酰基团，而组蛋白脱乙酰酶在组蛋白上去除乙酰基团。
6. 真核生物的基因含有 RNA 聚合酶 II 结合和起始转录的启动子序列。为了达到这个目的，真核细胞的 RNA 聚合酶与一系列转录相关因子结合，其中包括基础转录因子 TFIID 和 TFIIB。
7. 表达在特定细胞类型的真核生物基因含有调节它们在特定时间和空间转录的增强子序列。增强子在同一条染色体上激活基因的表达。增强子序列能位于内含子中或 3′ 非翻译区；它们甚至能位于远离被激活基因几百万个碱基对的位置。增强子也可以作为沉默子阻断一个基因在不相关

的细胞类型中的转录。

8. 特定的转录因子能识别启动子和增强子区域的特定 DNA 序列。这些蛋白质激活或抑制它们所结合的基因的转录。

9. 增强子以组合方式行使功能。多个转录因子的结合能促进或抑制从某一个启动子上起始的转录。在某些情况下，只有在 A 因子和 B 因子都存在的情况下转录才能被激活；在其他一些情况下，只需要 A 因子或 B 因子就可以激活基因的转录。

10. 增强子以模块方式行使功能。一个基因可以有多个增强子，每个增强子启动这个基因在一种特定的细胞类型中的表达。

11. 如果一个基因所编码的转录因子也能激活它的启动子，那么这个基因就能将自身维持在一个激活状态。因此，一个转录因子的基因能有一组启动它激活的增强子序列和另一组维持激活状态的增强子序列（这一组序列结合同一基因编码的转录因子）。

12. 转录因子以不同的方式调节 RNA 的合成。一些转录因子稳定 RNA 聚合酶Ⅱ与 DNA 的结合；另一些使核小体分离，提高转录效率。

13. 中介体复合物充当增强子和启动子之间的桥梁。

14. 转录延伸复合物能使 RNA 聚合酶Ⅱ从转录起始前复合物上释放下来，并继续转录 DNA。

15. 一个转录因子通常具有三个结构域：一个序列特异的 DNA 结合域、一个能使转录因子招募组蛋白修饰酶的反式激活域、一个能使它在增强子或启动子上与其他蛋白质相作用的蛋白质互作域。

16. 即便是分化的细胞，也能在重新激活不同组合的转录因子后被转变成其他细胞类型。

17. 在低 CpG 含量启动子上的转录与基因的启动子和增强子区域缺少 DNA 甲基化相关联。

18. 在高 CpG 含量启动子上，核小体通常能允许转录的启动，但不允许核 RNA 延伸。

19. DNA 甲基化的差异是产生基因组印记的原因，这个印记是精子和卵子传递的同一基因在表达上存在的差异。对于一些基因，只有当它们来自精子或卵子时才有活性。基因组印记的痕迹是一些在母本或父本基因座上被甲基化的 CpG 位点。

20. 维持活跃的基因表达通常是由三胸蛋白来完成的，而主动抑制则是由结合组蛋白甲基转移酶的多梳蛋白复合物来维持。

21. 绝缘子是结合 CCCTC 结合因子的 DNA 序列。绝缘子限制一个增强子激活一个启动子的范畴。

22. 通过阻止一些转录因子与染色质的结合，或通过在染色质上招募组蛋白甲基转移酶或组蛋白脱乙酰酶，DNA 甲基化能阻断基因的转录。

23. 一些染色质处于“待发”状态，能迅速应答发育信号。待发状态的染色质上的 mRNA 已经开始被转录，它的组蛋白上既有激活也有抑制的痕迹。

24. 差异性 RNA 剪接将核 RNA 的不同区域读成外显子或内含子，产生一个家族的相关蛋白。一些 DNA 序列在一些情况下被作为外显子，而在另一些情况下会被当成内含子。

25. 可变 RNA 剪接从同一个前体 mRNA 转录物上产生不同的蛋白质。这些蛋白质（剪接异构体）能行使不同的功能。

26. 前体 mRNA 的可变剪接是通过一些在不同细胞类型中差异表达的剪接位点识别因子来完成的。剪接位点的突变导致表型的改变和疾病。

27. 一些信使 RNA 只在某些时间被翻译。特别是卵母细胞，它们通过翻译调节将一些在卵母细胞发育过程中转录的信使 RNA 储存起来，在受精时使用。这些信使 RNA 的激活通常是通过去除抑制性蛋白或促进信使 RNA 的多腺苷酸化来完成的。

28. 微 RNA 有翻译抑制因子的作用，它们结合 RNA 的 3′ 非翻译区。微 RNA 招募一个抑制翻译或者导致 mRNA 降解的 RNA 诱导沉默复合物。

29. 很多 mRNA 都定位在卵母细胞或其他细胞的特定区域。这种定位受 mRNA 的 3′ 非翻译区调节。

30. 不同细胞类型中的核糖体会有差异，并且一些核糖体在一种细胞中比在其他细胞中能够更有效地翻译某些 mRNA。

31. 差异性基因表达更像是在演奏一个乐谱，而不是在解码一个代码剧本。它是一个有众多事件参与的随机现象，每个事件中的组分之间会发生很多的相互作用。

32. 有很多分子手段被用于研究差异性表达的基因，如原位杂交检测基因的表达、染色质免疫沉淀及测序鉴定蛋白质结合的 DNA 调节序列、基因敲减（RNA 干扰）和基因敲除（CRISPR/Cas9），这些手段都可以研究基因的功能。

拓展阅读

Core, L. J. and J. T. Lis. 2008. Transcriptional regulation through promoter-proximal pausing of RNA polymerase II. *Science* 319: 1791–1792.

Fire, A., S. Q. Xu, M. K. Montgomery, S. A. Kostas, S. E. Driver and C. C. Mello. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 39: 806–811.

Giraldez, A. J. and 7 others. 2006. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science* 312: 75–79.

Gurdon, J. B. 2016. Cell fate determination by transcription factors. *Curr. Top. Dev. Biol.* 116: 445–454.

Jinek, M., K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna and E. Charpentier. 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816–821.

Jothi, R., S. Cuddapah, A. Barski, K. Cui and K. Zhao. 2008. Genome-wide identification of the in vivo protein-DNA binding sites from ChIP-Seq data. *Nucl. Acids. Res.* 36: 5221–5231.

Melton, D. A. 2016. Applied developmental biology: making human pancreatic beta cells for diabetics. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 65–73.

Miura, S. K., A. Martins, K. X. Zhang, B. R. Graveley and S. L. Zipursky. 2013. Probabilistic splicing of *Dscam1* establishes identity at the level of single neurons. *Cell* 155: 1166–1177.

Muse, G. W. and 7 others. 2007. RNA polymerase is poised for activation across the genome. *Nature Genet.* 39: 1507–1511.

Nelson, C. E. and 14 others. 2016. In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science* 351: 403–407.

Nüsslein-Volhard, C. and E. Wieschaus. 1980. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287: 795–801.

Ong, T.-C. and V. G. Corces. 2011. Enhancer function: New insights into the regulation of tissue-specific gene expression. *Nature Rev. Genet.* 12: 283–293.

Palacios, I. M. 2007. How does an mRNA find its way? Intracellular localization of transcripts. *Sem. Cell Dev. Biol.* 163–170.

Peter, I. and E. H. Davidson. 2015. *Genomic Control Process: Development and Evolution*. Academic Press, Cambridge.

Takahashi, K. and S. Yamanaka. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676.

Wilmut, I., K. Campbell and C. Tudge. 2001. *The Second Creation: Dolly and the Age of Biological Control.* Harvard University Press, Cambridge, MA.

Wilson, R. C. and J. A. Doudna. 2013. Molecular mechanisms of RNA interference. *Annu. Rev. Biophys.* 42: 217–239.

Yasumoto, K., K. Yokoyama, K. Shibata, Y. Tomita and S. Shibahara. 1994 Microphthalmia-associated transcription factor as a regulator for melanocyte-specific transcription of the human tyrosinase gene. *Mol. Cell Biol.* 12: 8058–8070.

Zhou, Q., J. Brown, A. Kanarek, J. Rajagopal and D. A. Melton. 2008. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β cells. *Nature* 455: 627–632.

Zhou, V. W., A. Goren and B. E. Bernstein. 2011. Charting histone modifications and the functional organization of mammalian genomes. *Nature Rev. Genet.* 12: 7–18.

Zinzen, R. P., C. Girardot, J. Gagneur, M. Braun and E. E. Furlong. 2009. Combinatorial binding predicts spatio-temporal *cis*-regulatory activity. *Nature* 462: 65–70.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

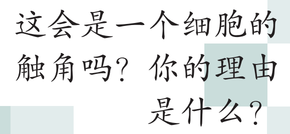
第 4 章

细胞之间的信息传递

形态发生的机制

发育不仅只是分化，一个生物体中的不同细胞类型并非以随机排列的方式存在；相反地，它们形成有组织的结构，如肢和心脏。而且，组成我们手指的各种细胞类型，如骨骼、软骨、神经元、血细胞及其他等，与构成我们的骨盆和腿的细胞类型都是一样的。这些细胞必须井然有序地以某种方式排列，以产生不同的形状和完成各种连接。这种高度组织化的形态构建称为**形态发生**（**morphogenesis**），它一直都是人类最大的奇迹之一。

12 世纪的犹太哲学家、医生迈蒙尼德（Maimonides）很完美地表述了形态发生这个问题。他注意到那个时代（大约公元 1190 年）虔诚的人都相信有一个上帝的天使进入子宫后创造了胚胎的器官。这对他来说是个奇迹。迈蒙尼德自问，如果上帝创造了物质，使得它能够造就这样一种非凡的秩序，而不需要一个塑形的天使去干预每个孕妇，



这会是一个细胞的触角吗？你的理由是什么？





要点

细胞之间的信息传递通过分泌的或位于细胞膜上的信息分子来完成。当这些分子结合邻近细胞的受体时，它们便在细胞内引发一连串的反应，导致基因的表达、酶的激活、细胞骨架排列的变化，影响细胞命运、细胞行为、细胞形状。细胞之间的差异性黏附能影响它们在胚胎和器官中的空间排布，这通常由钙黏着蛋白受体的同亲和结合所介导。上皮细胞有时会转变成迁移的间充质细胞，这是一个对发育和肿瘤扩散都很重要的细胞行为。从细胞上伸出的特殊突触，如静纤毛和长的丝足延伸，同样在细胞之间的信息传递中起重要作用。分泌性的信号蛋白，如一些成纤维细胞生长因子、Hedgehog、Wnt 和一些骨形态发生蛋白，都能作为形态发生素诱导基因表达的变化，取决于它们的浓度。形态发生素梯度在一个胚胎或一个组织的所有方向上图式化细胞命运。最后，邻近细胞的近分泌信号能在整个组织中影响极性化的细胞图式。所有这些机制共同引导细胞命运的图式和胚胎的形态发生。

那么生命这个奇迹将会是多么伟大？当前我们讨论的问题其实就是迈蒙尼德所提出的问题的非宗教版本：物质自身如何自我构建成胚胎中有序的组织？

在 20 世纪中期，E. E. Just（1939）和 Johannes Holtfreter（Townes and Holtfreter 1955）预测，胚胎中各种细胞的细胞膜成分可能会存在差异，这使它们能形成器官。在 20 世纪后期，这些膜成分，即那些能使胚胎细胞互相黏附、迁移和在邻近细胞中诱导基因表达的分子，开始被发现并被注释。目前，这些途径和网络已经被建模，并且我们正在开始理解一个细胞如何通过整合来自细胞核和周围环境的信息，在细胞群体中找到它的位置，参与独特的形态发生事件。

我们在第 1 章已经有所讨论，一个胚胎中的细胞或是上皮性或是间充质性（见表 1.1）。上皮细胞互相黏附在一起，能形成片状和管状结构，而间充质细胞通常独立迁移，产生大范围的细胞外基质，能维持细胞之间的分离。一个器官由一个上皮和一个下部的间充质形成。看似好像细胞只通过少数几个过程就能形成一个有复杂结构的器官（Newman and Bhat 2008），但所有这些过程都需要细胞表面的参与。这一章将主要讨论三种细胞表面介导的细胞间信息传递：细胞黏附、细胞形态、细胞信号传递。

4.1 细胞之间信息传递的快速入门

一个胚胎在任何时期都是由细胞之间的相互作用而得以维持、组织和形成的。细胞所展示出的互作限定了它们之间进行信息传递的方式。为了使人之间的信息传递能够顺利进行，需要来自一个人的一个初始“声音”或信号，这个“声音”或信号被另一个人“听到”或接收，然后产生一个特定的反应（一种语气的变化、一个拥抱，或者也许会回复一句讽刺的话），这很像朋友之间的交谈。细胞之间的分子信息传递主要通过高度多样化和高度特异性的蛋白质互作，然后诱导出一系列的细胞反应，从基因转录和葡萄糖代谢的变化到细胞迁移和死亡。细胞之间，以及细胞和它们周围环境之间的互作（或信息传递）起始于细胞膜，由一些定位在细胞膜内、锚定在细胞膜上或从细胞膜分泌出去的蛋白质来完成。

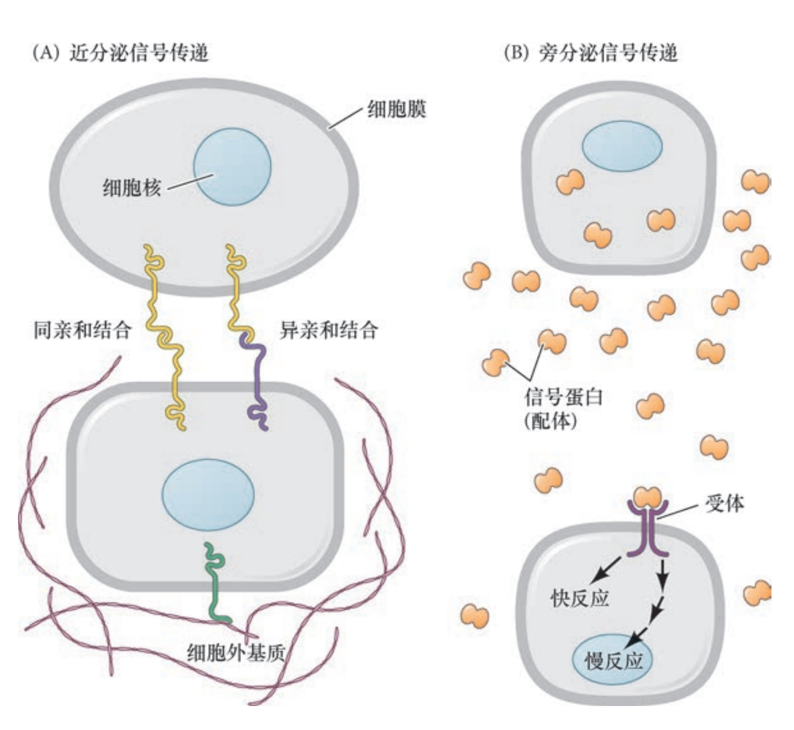


图 4.1 细胞之间的局部和长距离信息传递模型。(A) 局部的细胞信号传递通过膜受体与细胞外基质（ECM）结合，或以近分泌信号传递的方式与邻近细胞的膜受体直接结合来完成。(B) 一种长距离信号传递的机制是通过旁分泌信号，一个细胞将一个信号蛋白（配体）分泌到周围环境，这个蛋白质能穿越很多细胞的距离。只有表达与这个配体相对应的受体的一些细胞才能予以响应，或通过细胞质中的生化反应做出快速应答，或通过基因和蛋白质的表达做出较慢的反应。

在一个胚胎中，细胞之间的信息传递可以发生在短距离内，如直接接触的邻近细胞之间，称为**近分泌信号传递**（**juxtacrine signaling**）；或通过分泌到细胞外基质的蛋白质进行远距离的信息传递，称为**旁分泌信号传递**（**paracrine signaling**；图 4.1）。被一个细胞分泌出去并被用来在另一个细胞中传递一个反应的蛋白质通常被归类为信号蛋白，一般称为**配体**（**ligand**）；而在细胞膜上的蛋白质，用于结合其他膜联结的蛋白质或信号蛋白，被称为**受体**（**receptor**）。在一个细胞上的膜受体结合另外一个细胞上的相同受体被视为**同亲和结合**（**homophilic binding**）。相反，**异亲和结**

合（**heterophilic binding**）发生在两个不同类型的受体之间（见图 4.1A）。

配体与任何类型的受体结合时会改变受体的形态或构象。在细胞外发生的构象改变会影响受体在细胞内的形态，后者会赋予受体的细胞内部分一个新的特性。它现在可以激活一个信号转导途径中的一些酶促反应。通常，这个“信号”通过途径中一些分子逐次的构象改变、一些磷酸基团或其他小分子（环腺苷酸、钙离子）的结合所引起的变化而被传递或“转导”，最后产生细胞反应。一些最终在细胞核内激活基因表达的信号途径的反应速度通常要慢于那些酶促激活的生化途径或调节细胞骨架蛋白的途径，因此它们分别影响细胞的生理功能和运动。所以，信号转导途径对动物的发育至关重要。

4.2　黏附和分选：近分泌信号传递和形态发生的物理现象

各种组织如何由一些细胞群体形成、各种器官如何由一些组织构建而成？器官如何形成在特定的位置、迁移细胞怎样才能到达它们的最终目的地？例如，一些骨细胞如何与另一些骨细胞黏附在一起后形成骨骼，而不是与近邻的毛细血管细胞或肌细胞合并在一起？是什么将中胚层与外胚层分离，使皮肤能有一层真皮和一层表皮？为什么眼睛只在头部形成？一些细胞，如我们的色素细胞前体和生殖细胞，如何通过长距离的旅行到达各自的目的地？

针对这些问题是否有一个简单而通用的答案？毕竟一个胚胎，从它的 RNA 分子链到它的全部脉管系统，是在确定我们宇宙的那些相同物理限制之内进行发育的。现在来考虑一下用沙子做成的一个沙雕（**图 4.2**）。控制水分子和沙粒之间的表面张力的热动力学特性将奥拉夫（Olaf）的各个部分维持在一起。并且，沙雕上的阳光会对表面和内部产生温度差异，以及与之相关的水分蒸发；结果是表面沙粒之间的黏附很快降低，而中心沙粒之间的黏附仍然紧密的维持在一起（当然只是在潮汐变化之前）。相同的热动力学原理是否也控制着支持胚胎形态发生的细胞连接？



图 4.2　沙粒之间的黏附将这个迪士尼人物雪宝的沙雕维持在一起。

4.2.1　差异性的细胞亲和力

形态发生的实验分析起始于 1955 年 Townes 和 Holtfreter 所做的实验。利用两栖类组织在碱性溶液中能分离成单个细胞这一特点，他们在神经管形成后将胚胎的三个胚层分别制备成单细胞悬液。两种或更多种这样的悬液可以通过不同的方式组合，重新混合在一起。当溶液的 pH 被调成中性时，细胞就会互相黏附，在铺有琼脂的培养皿中形成聚集体。使用来自不同物种的胚胎细胞（它们的大小和颜色有差异），Townes 和 Holtfreter 追踪了这些细胞组合的行为。

他们的实验结果在当时非常引人注目。Townes 和 Holtfreter 发现，重新聚集的细胞在空间上产生隔离。也就是说，每一种类型的细胞各自分选到它们的位置，而不是混合在一起。因此，当表皮（外胚层）和中胚层细胞混合在一个聚集体时，表皮细胞迁移到聚集体的外围，而中胚层细胞移动到内部（**图 4.3**）。更重要的是，研究人员发现，在重新聚集后，细胞的最终位置反映出它们各自在胚胎中的位置。聚集在一起的中胚层相对于外胚层向中间迁移，黏附在表皮的内表面（**图 4.4A**）。中胚层相对于消化管或内胚层也向中间迁移（**图 4.4B**）。然而，当三个胚层的细胞被混合在一起时，内胚层和中胚层与外胚层分离，被外胚层包裹在内部（**图 4.4C**）。最终的排列是外胚层处在外围、内胚层在最内部，而中胚层被夹在两者之间。

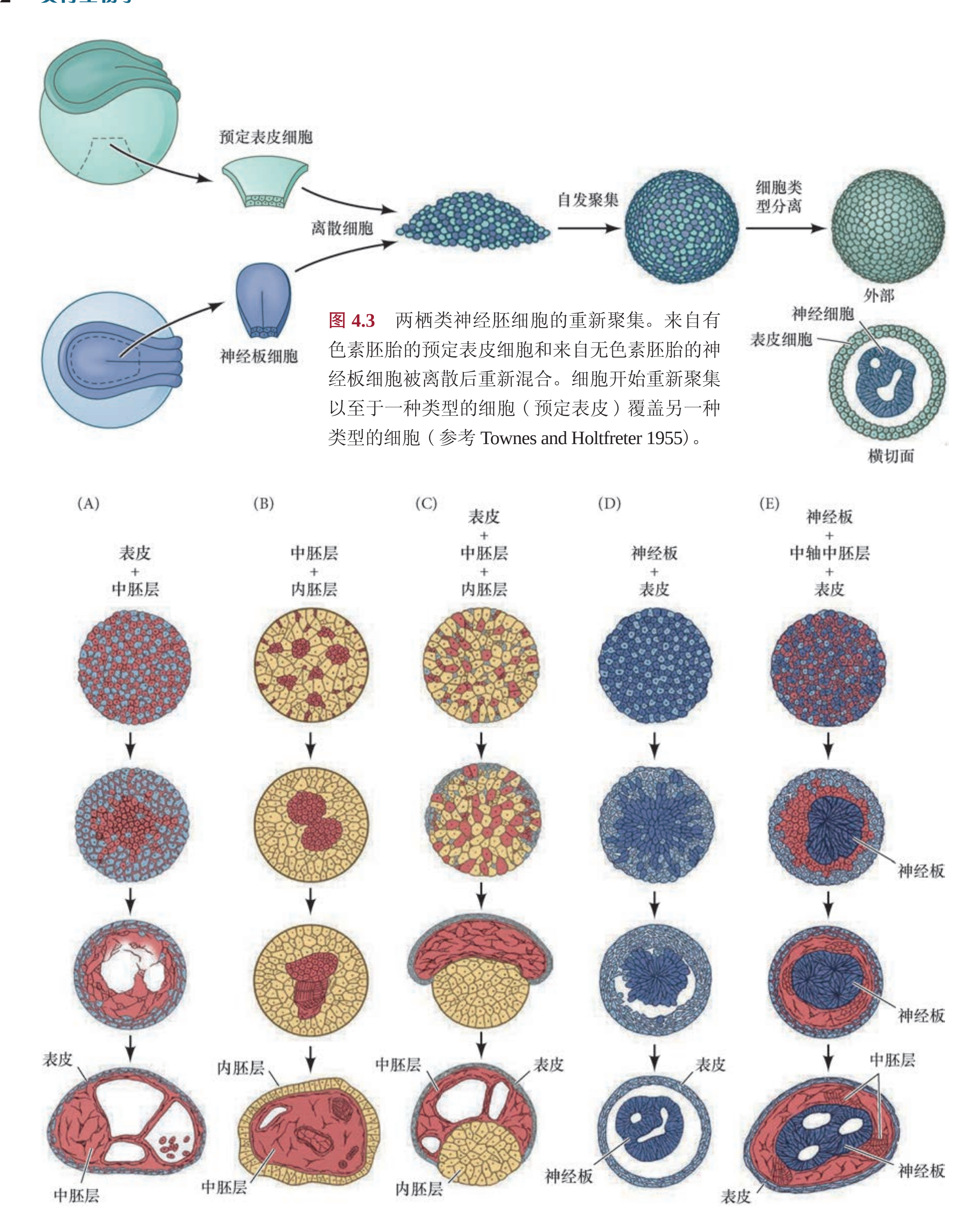


图 4.3 两栖类神经胚细胞的重新聚集。来自有色素胚胎的预定表皮细胞和来自无色素胚胎的神经板细胞被离散后重新混合。细胞开始重新聚集以至于一种类型的细胞（预定表皮）覆盖另一种类型的细胞（参考 Townes and Holtfreter 1955）。

图 4.4 两栖类胚胎细胞聚集体中细胞的分选和空间关系的重建（参考 Townes and Holtfreter 1955）。

Holtfreter 将这个发现用**选择性亲和力**（**selective affinity**）的术语来解释。外胚层的内表面与中胚层细胞有正亲和力，与内胚层有负亲和力，而中胚层与外胚层和内胚层细胞都有正亲和力。用细胞聚集体来模仿正常胚胎结构同样可以观察到表皮和神经板细胞的重新组合（**图 4.4D**）。预定表皮细胞与原来一样迁移到外围；神经板细胞向内迁移，形成类似于神经管的结构。如果将中轴中胚层（脊索）细胞添加到预定表皮和预定神经细胞的悬液中，细胞之间的分离就产生了一个外部表皮层、一个位于中心的神经组织和位于两者之间的一层中胚层细胞（**图 4.4E**）。在某种程度上，细胞能分选成它们的正确胚胎位置。

Holtfreter 及其同事断定，选择性亲和力在发育过程中出现变化。为了使发育能正常进行，一些细胞在特定的时间必须与其他细胞群体产生不同的互作。这种细胞亲和力的变化在形态发生过程中至关重要。

4.2.2　细胞之间相互作用的热动力学模型

细胞并不随机分选，而是活跃运动以产生组织的分离。是什么力量引导形态发生过程中的细胞运动？在 1964 年，Malcolm Steinberg 提出了**差异黏附假说**（**differential adhesion hypothesis**），这是一个基于热动力学原理来试图解释细胞分选图式的模型。用胰蛋白酶处理胚胎组织的细胞后，Steinberg 证明，与一些类型的细胞混合在一起时，某些类型的细胞向中间迁移；与另一些类型的细胞混合时，同样的细胞却向外围迁移。这样的互作形成了一个层次（Steinberg 1970）。如果一个 A 类型细胞相对于一种 B 类型细胞的最终位置是内部，并且 B 类型细胞相对于第三种 C 类型细胞的最终位置也是内部，那么显而易见，A 类型细胞相对于 C 类型细胞的最终位置将始终是内部（图 4.5A；Foty and Steinberg 2013）。例如，色素视网膜细胞迁移到神经视网膜细胞的内侧，心脏细胞迁移到色素视网膜细胞的内侧，因此，心脏细胞迁移到神经视网膜细胞的内侧。通过对这种现象的观察，Steinberg 提出，细胞之间通过相互作用来形成具有最小界面自由能的聚集体。换句话说，细胞进行自身重排而形成热动力学最稳定的图式。如果 A 类型和 B 类型的细胞有不同强度的黏性，并且，如果 A 类型细胞之间连接的强度要大于 A 类型细胞与 B 类型细胞或 B 类型细胞之间连接的强度，将会发生细胞的分选，而且 A 类型细胞最为关键。但是，如果 A 类型细胞之间连接的强度小于或等于 A 类型细胞与 B 类型细胞之间连接的强度时，聚集体将会是细胞之间的随机混合。最后，如果 A 类型细胞之间连接的强度远远大于 A 类型细胞与 B 类型细胞之间连接的强度，换句话说，如果 A 类型细胞与 B 类型细胞之间没有黏附性，这两种类型的细胞将形成独立的聚集体。根据这个假设，可以认为早期胚胎是处在一个平衡状态，直到细胞膜上出现一些黏附特性的变化。在胚胎中发生的运动旨在将细胞恢复到一个新的平衡状态。要使分选能够发生，细胞类型之间的黏附强度必须存在差异；而差异性黏附受细胞表面分子的数量或组成的调节。

在使用多种组织类型进行的一些严谨实验中，研究人员证明，与具有较小表面张力的细胞相比，具有较大表面凝聚力的细胞类型向中间迁移（图 4.5B；Foty et al. 1996；Krens and Heisenberg 2011）。如果把这个模型简化到最大程度，那就可以说，所有细胞的表面都有相同类型的“胶水”。这种

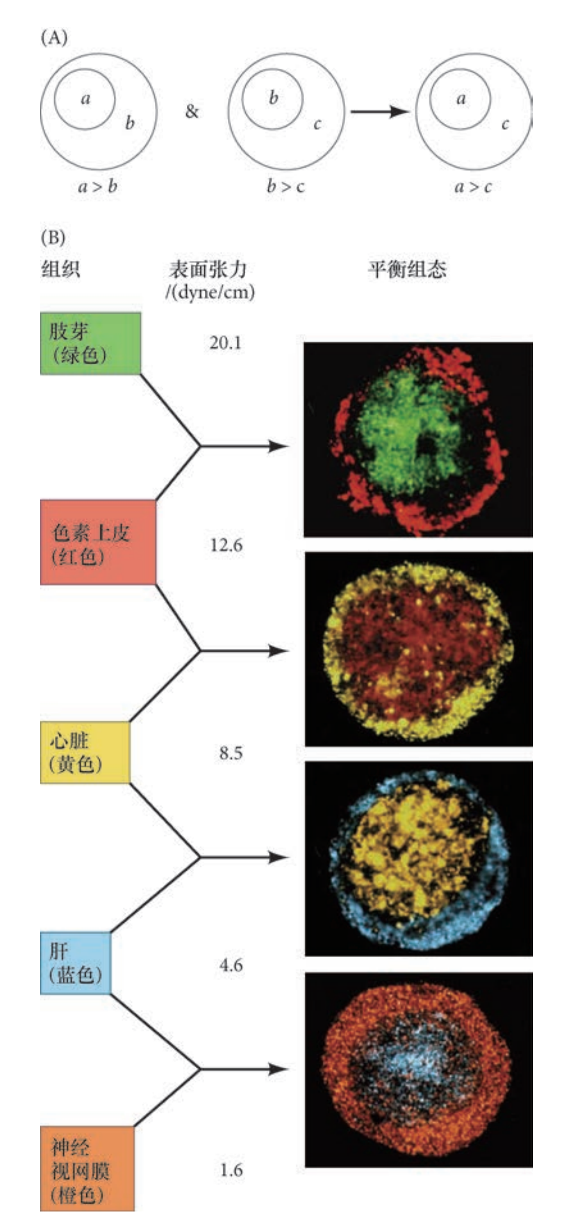


图 4.5　逐渐减弱表面张力时细胞分选的层次。(A) 简要示意图展示差异性细胞黏附特性的一个逻辑推理。(B) 平衡组态反映了细胞凝聚力的强度，具有较强凝聚力的细胞类型被包裹在具有较弱凝聚力的细胞类型的内部。这些图是将聚集体切片后利用计算机为不同的细胞类型添加颜色。黑色的区域代表被图片优化程序去除的那些信号（来自 Foty et al. 1996，图由 M. S. Steinberg 和 R. A. Foty 提供）。

袖珍指南

一些视频描述 Townes、Holtfreter 及 Malcolm Steinberg 的先驱实验，显示细胞表面黏附分子如何引导细胞的分选行为。

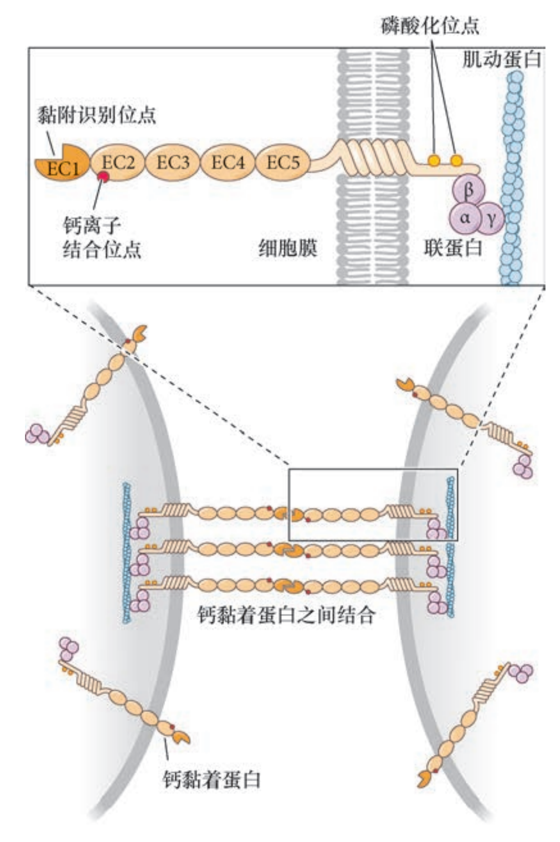


图 4.6 简要示意图显示钙黏着蛋白通过联蛋白与细胞骨架连接。EC，细胞外结构域（参考 Takeichi 1991）。

"胶水"的量，或能使这种物质在表面差异性分布的细胞结构，可以产生细胞类型之间形成稳定接触的数量差异。如果把这个模型用更专业的语言描述，我们可以认为热动力学差异的原因是细胞膜表面具有不同类型的黏附分子（见 Moscona 1974）。在用现代的手段重复 Holtfreter 的研究时，Davis 及其同事（1997）发现，每个胚层的组织表面张力与体外和体内分选图式形成时所需要的张力完全一致。

4.2.3 钙黏着蛋白和细胞黏附

有证据显示，组织之间的边界是由含不同类型和不同数量的细胞黏附分子的各种细胞类型形成的。有几类参与介导细胞黏附的分子，但主要的一些细胞黏附分子是钙黏着蛋白。

如它们的名称所提示，**钙黏着蛋白**（**cadherin**）是钙依赖黏附分子（*ca*lcium-*d*ependent ad*he*sion molecule）。这些分子对建立和维持细胞之间的连接起至关重要的作用，它们对细胞类型的空间隔离和动物形态的组织化尤为重要（Takeichi 1987）。钙黏着蛋白是一些与邻近细胞上其他钙黏着蛋白相互作用的跨膜蛋白，它们被一个称为**联蛋白**（**catenin**）的蛋白质复合物锚定在细胞内（图 4.6），这样，钙黏着蛋白和联蛋白形成典型的黏着连接，将上皮细胞维持在一起。而且，因为钙黏着蛋白和联蛋白与细胞中的肌动蛋白（微丝）细胞骨架结合，它们将上皮细胞整合为一个机械单元。阻断钙黏着蛋白的功能（利用结合并失活钙黏着蛋白的抗体）或抑制钙黏着蛋白的合成（利用反义 RNA 结合钙黏着蛋白的信使 RNA 来抑制翻译），能阻止上皮组织的形成并导致细胞的分离（Takeichi 1979）。

钙黏着蛋白行使多种相关的功能。第一，它们的细胞外结构域将上皮细胞黏附在一起。第二，钙黏着蛋白与肌动蛋白细胞骨架相连接并协助它们的组装，因此为片状和管状结构提供机械力。第三，钙黏着蛋白被用于启动和传递信号，使细胞中的基因表达发生变化。

在脊椎动物，多种主要类型的钙黏着蛋白已被鉴别出来。例如，**上皮钙黏着蛋白**或**上皮钙黏素**（**E-cadherin**）表达在所有哺乳动物的胚胎细胞，甚至是表达在合子期。在斑马鱼胚胎的原肠胚形成过程中，上皮钙黏素对片状上胚层的形成和迁移是必需的。在缺失上皮钙黏素的"*half-baked*"斑马鱼突变体胚胎中，深层的上胚层细胞不能径向地嵌插到更表面的上胚层细胞。这是发生在体内的一个分选过程，称为**径向嵌插**（**radial intercalation**），对原肠胚形成过程中的外包运动有促进作用（图 4.7；也见第 11 章和 Kane et al. 2005）。在发育后期，上皮钙黏素的表达只限定在胚胎和成体的上皮组织。

在哺乳动动物，**胎盘钙黏着蛋白**或**钙黏素**（**P-cadherin**）主要表达在胎盘，有助于胎盘与子宫的黏附（Nose and Takeichi 1986；Kadokawa et al. 1989）。**神经钙黏素**（**N-cadherin**）高度表达在发育中的神经系统细胞（Hatta and Takeichi 1986），并且可能参与介导神经信号。**R 型钙黏着蛋白**（**R-cadherin**），即视网膜钙黏着蛋白，对视网膜的形成至关重要（Babb et al. 2005）。还有一类称为**原钙黏着蛋白**（**protocadherin**）的钙黏着蛋白（Sano et al. 1993），它们缺少通过联蛋白与肌动蛋白细胞骨架的连接。表达类似的原钙黏着蛋白是将运动过程中的上皮细胞维持在一起的重要手段，而表达异类的原钙黏着蛋白是将不同组织分隔的重要方式（如形成脊索的中胚层与周围形成体节的中胚层之间的分隔）。

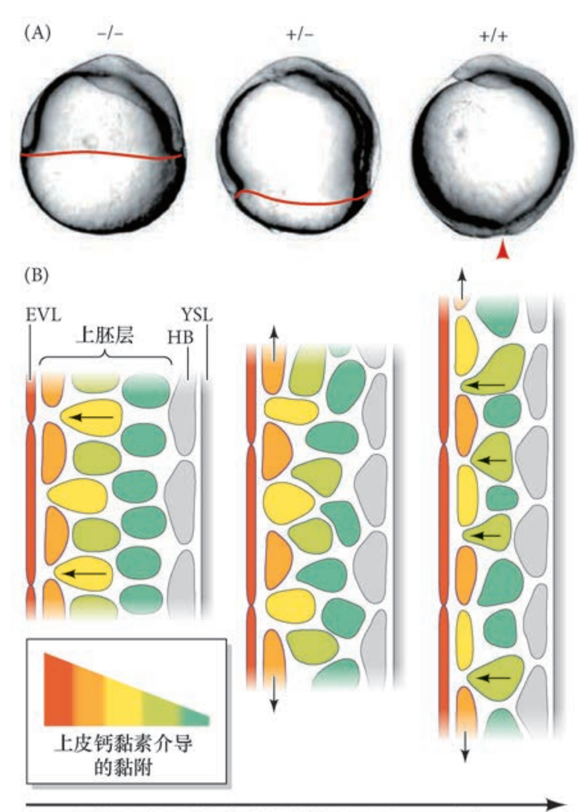


图 4.7　上皮钙黏素参与斑马鱼原肠胚形成过程中的外包运动。(A) 野生型胚胎（右图）、称为“*half-baked*”的上皮钙黏素杂合突变体胚胎（中图）和纯合突变体胚胎（左图）。在正常的原肠胚形成过程中，细胞之间混合形成更薄和外展的上胚层，包裹整个卵黄（红色箭头显示野生型胚胎中卵黄被完全包裹的位置）。上皮钙黏素的突变体胚胎不能完成外包，在纯合突变体中外包运动的缺陷更为严重（红线代表上胚层的最前缘）。(B) 示意图显示斑马鱼胚胎原肠胚形成过程中，上胚层在不同时间的径向嵌插运动。细胞向表面的包被层的运动与上皮钙黏素的表达量逐渐增高有关。上皮钙黏素在上胚层的表层（包括包被层）高度表达，这个差异性的表达（其结果是差异性的黏附）促使深层细胞向边缘径向运动。EVL，包被层；HB，下胚层；YSL，卵黄合胞体层（数据和图片基于 Kane et al. 2005，由 R. Warga 提供）。

细胞表面张力和细胞之间结合的趋向取决于钙黏着蛋白之间相互作用的强度 (Duguay et al. 2003)。这个强度可以通过量的区别（并排细胞表面上的钙黏着蛋白越多，黏附力就越强），或者是通过质的区别（一些钙黏着蛋白能与不同类型的钙黏着蛋白结合，而另一些却不能）来实现。

数量和凝聚力　Steinberg 和 Takeichi (1994) 首次证明了细胞基于钙黏着蛋白的表达量而进行自我分选的能力。他们利用两个细胞系合作开展了一个实验，这两个细胞系完全相同，只有胎盘钙黏着蛋白的合成量有差异。当这两组钙黏着蛋白表达量存在差异的细胞被混合在一起时，胎盘钙黏着蛋白表达量高的细胞具有更大的表面凝聚力，并迁移到胎盘钙黏着蛋白表达量低的一组细胞的内部。Foty 和 Steinberg (2005) 证明了这种钙黏着蛋白的数量依赖性分选与表面张力有直接关联（**图 4.8A，B**）。这些同型聚集体（所有细胞含有同类的钙黏着蛋白）的表面张力与细胞表面的钙黏着蛋白表达量呈线性关系。细胞的分选层次严格依赖于细胞之间钙黏着蛋白互作的数量。这个热动力学原则同样适合于异型聚集体，在这种聚集体中，各种钙黏着蛋白类型的相对数量仍可以预测细胞在体外的分选行为 (Foty and Steinberg 2013；**图 4.8C**)。

类型、时间和边界形成　钙黏着蛋白的量性效应是非常重要的，但是，质性的互作，也就是说钙黏着蛋白表达的类型和时间，也同样非常重要。一些特定的发育事件所发生的时间依赖于钙黏着蛋白的表达。例如，在发育过程中的鸡胚胎腿部，神经钙黏素表达在开始凝集和形成一些软骨结节的间充质细胞（这些软骨结节是肢骨骼的前体）。但神经钙黏素在这些间充质细胞凝集前不表达，在凝集后也不表达。如果在肢的间充质细胞凝集前注射阻断神经钙黏素的抗体，这些细胞将不能凝集，软骨也随之不能形成 (Oberlender and Tuan 1994)。所以，这样看来，在鸡的肢上起始软骨形成的信号应该是神经钙黏素的表达。

钙黏着蛋白的类型也具有其重要性。例如，Duguay 及其同事 (2003) 证明，R 型钙黏着蛋白与 B 型钙黏着蛋白（脑钙黏着蛋白）互相不能较好地结合。当分别表达 R 型钙黏着蛋白或 B 型钙黏着蛋白的两组细胞以相同的数量被混合在一起时，它们分选成有明确边界和对立的两团细胞（**图 4.9A**）。边界的形成是很多形态发生事件所必需的关键物理成就。例如，在发育中的外胚层，神经钙黏素的表达对神经细胞

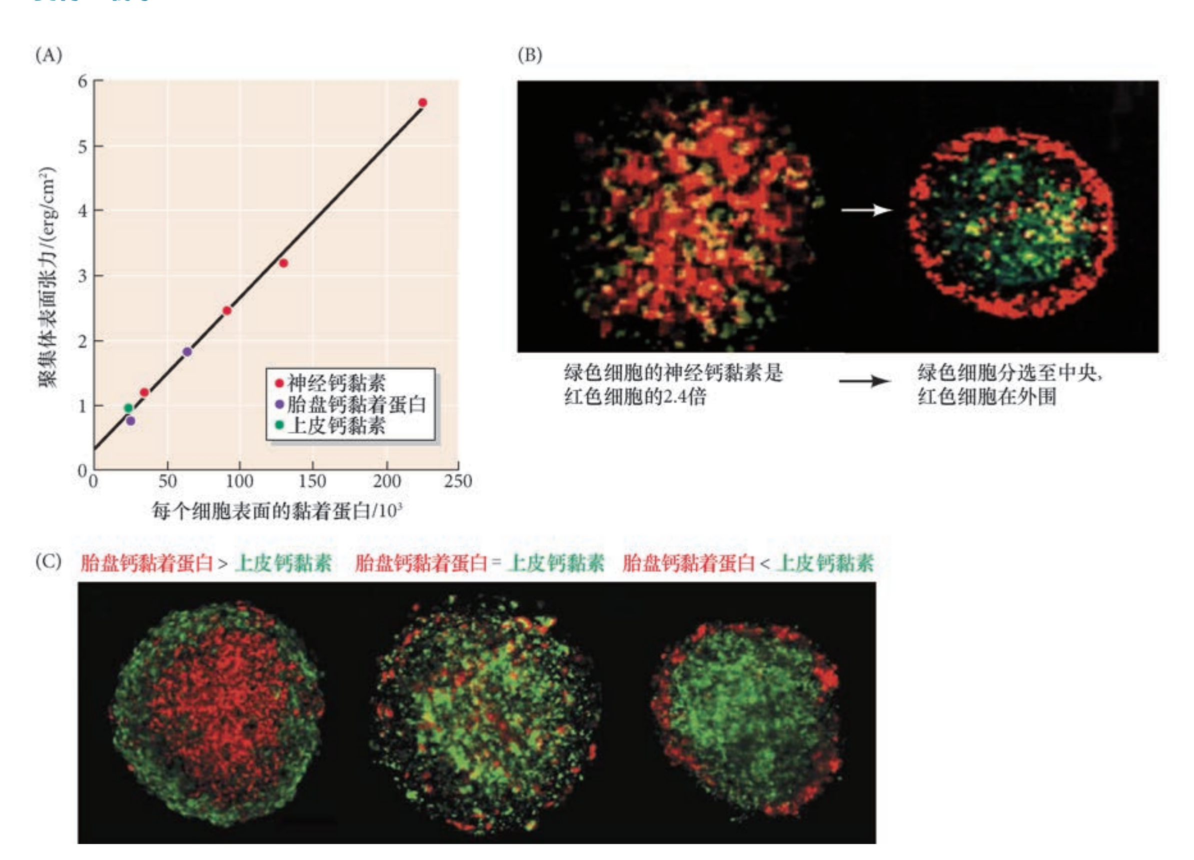


图 4.8 钙黏着蛋白的表达量对正确的形态发生的重要性。(A) 聚集体的表面张力与细胞膜上钙黏素的表达量相关。(B) 钙黏着蛋白表达量有差异的两个亚群细胞的分选。绿色细胞膜上的神经钙黏素的表达量是其他细胞（钙黏着蛋白的基因不正常表达）的 2.4 倍。在孵育 4 h 后（左图），细胞随机分布，但在孵育 24 h 后（右图），红色细胞的表面张力大约为 2.4 erg/cm^2，它们形成了一个外壳，将紧密聚集的绿色细胞（表面张力大约为 5.6 erg/cm^2）包在内部。(C) 即使两个细胞表达不同的钙黏着蛋白（即异型），也能发生依赖于钙黏着蛋白表达量的细胞分选。红色显示胎盘钙黏着蛋白，绿色代表上皮钙黏素 (A 图和 B 图来自 Foty and Steinberg 2005；C 图来自 Foty and Steinberg 2013)。

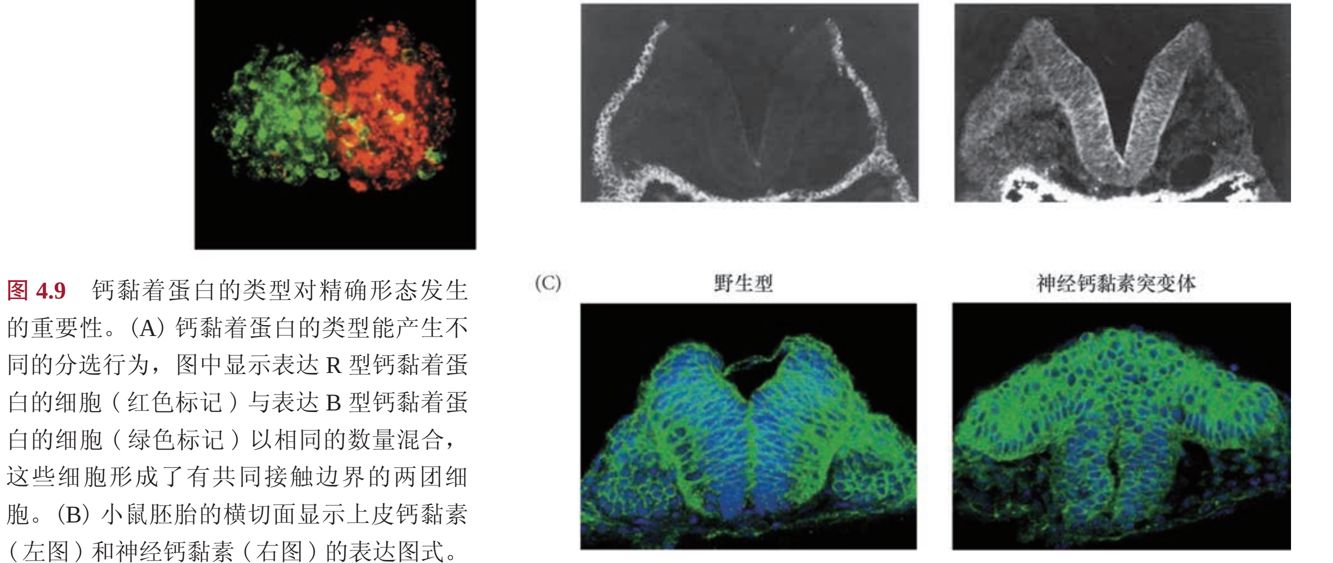


图 4.9 钙黏着蛋白的类型对精确形态发生的重要性。(A) 钙黏着蛋白的类型能产生不同的分选行为，图中显示表达 R 型钙黏着蛋白的细胞（红色标记）与表达 B 型钙黏着蛋白的细胞（绿色标记）以相同的数量混合，这些细胞形成了有共同接触边界的两团细胞。(B) 小鼠胚胎的横切面显示上皮钙黏素（左图）和神经钙黏素（右图）的表达图式。在形态发生过程中，神经钙黏素对预定表皮和神经组织的分隔至关重要。(C) 在野生型斑马鱼中，神经管清楚地从表皮上分离，但在缺失神经钙黏素的突变体胚胎中不能分离。在这些图中，细胞轮廓被 β- 联蛋白抗体染为绿色，而细胞的内部用蓝色标记 (A 图来自 Duguay et al. 2003，由 R. Foty 提供；B 图照片由 K. Shimamura 和 H. Matsunami 拍摄，由 M. Takeichi 提供；C 图来自 Hong and Brewster 2006，由 R. Brewster 提供）。

前体和表皮细胞前体之间的分离至关重要（图 4.9B）。最初，所有的早期胚胎细胞都表达上皮钙黏素，但那些将要变成神经管的细胞后来失去上皮钙黏素，开始表达神经钙黏素。如果用实验的方法使表皮细胞表达神经钙黏素，或在预定神经细胞中阻断神经钙黏素的合成，皮肤和神经系统的边界就不能正常形成（图 4.9C；Kintner et al. 1992）。所以，通过差异性表达两种不同类型的钙黏着蛋白，在具有最弱异亲和互作的细胞膜上所形成的边界就能使不同的组织互相分隔（Fagotto 2014）。

在胚胎中形成边界的另一个例子是中胚层将中轴（脊索）中胚层与轴旁（体节）中胚层分隔。形成这个边界的主要机制是，在边界细胞相接触的膜上 C 型钙黏着蛋白（经典钙黏着蛋白）的表达量降低（Fagotto et al. 2013）。Fagotto 及其同事在非洲爪蛙活体胚胎中检测了这个机制，他们发现肌动蛋白和肌球蛋白收缩束与这个边界的界面平行排列，并且这些收缩束对 C 型钙黏着蛋白的降低和边界形成是必需的（图 4.10）。

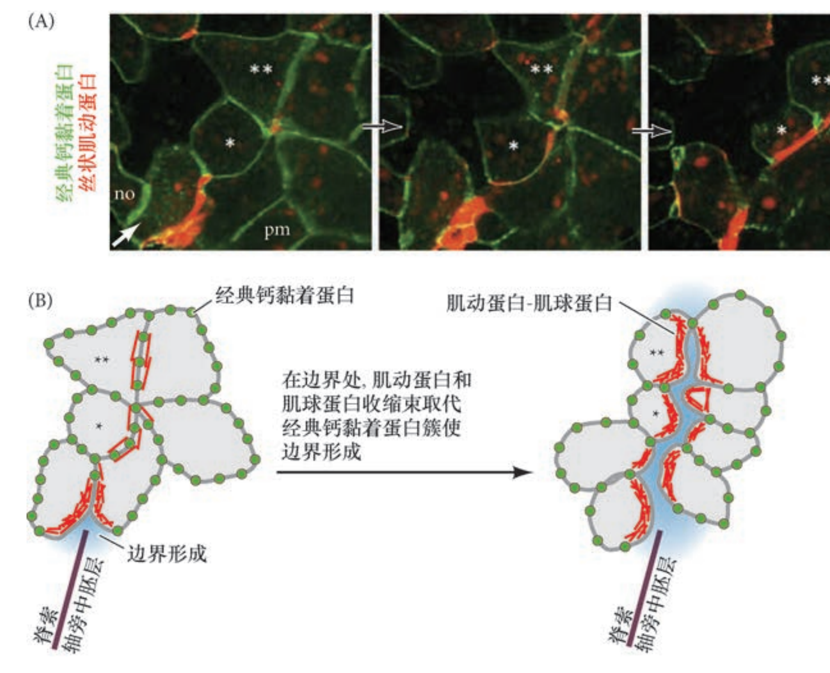


图 4.10　边界的形成。(A) 非洲爪蛙背部中胚层细胞外植体的活体细胞成像。脊索细胞（no；星号）与轴旁中胚层细胞（pm）之间的边界逐渐形成，这个过程与经典钙黏着蛋白（绿色）在预定边界处的降低和丝状肌动蛋白（红色）的增高相对应。边界由左下部到右上部逐渐形成（白色箭所示）。(B) A 图的示意图。显示经典钙黏着蛋白与肌动蛋白和肌球蛋白收缩单元的相对水平；边界由蓝色显示（参考 Fagotto et al. 2013）。

拓展性问题

细胞表面下部的肌动蛋白细胞骨架对组织钙黏着蛋白形成细胞间的稳定连接有重要作用。尽管钙黏着蛋白之间结合的能量值非常高，大约是 3400 kcal/mol，或者是大多数代谢蛋白之间结合的能量值的 200 倍，肌动蛋白和肌球蛋白的收缩力对建立一个细胞的张力也很重要。最近，有一个“差异性界面张力假说”，认为细胞的皮质收缩力比细胞之间的黏附力对分选更为重要。因为目前已经具备了一些能更好地在体内量化细胞和分子力度的手段，人们更期待进一步了解差异性黏附和差异性界面张力如何协同作用以调节形态发生。在未来的几年，我们需要密切注意越来越多的关于生物物理特性在形态发生机制中的作用。

网络话题 4.1　形态变化和上皮的形态发生：“你有很强的力量”　上皮细胞形成片和管的能力依赖于钙黏着蛋白和肌动蛋白细胞骨架参与的细胞形态变化。

4.3　细胞外基质作为发育信号的来源

细胞之间的相互作用需要有一个环境为依托，这些互作与细胞周围的环境条件协调配合，并且经常被这些环境条件引发，这个环境被称为**细胞外基质**（**extracellular matrix**），是一个由细胞分泌的一些大分子所组成的不溶性网络。这些大分子在细胞之间的间隙形成了一个非细胞的区域。细胞黏附、细胞迁移、上皮性片状和管状结构的形成都依赖于细胞与细

胞外基质形成附着的能力。在某些情况下，如上皮的形成，这些附着非常紧密；在其他情况下，如细胞迁移，这些附着需要形成、打破，然后再形成。在某些情况下，细胞外基质只作为一个容许性的基质，使细胞可以黏附或迁移。在其他情况下，细胞外基质为细胞运动提供方向，或者为一个发育事件提供信号。细胞外基质由一些基质蛋白如胶原蛋白、蛋白聚糖，以及各种特殊糖蛋白分子如纤连蛋白和层粘连蛋白组成。

蛋白聚糖（**proteoglycan**）对传送旁分泌因子有重要作用。这些大分子由核心蛋白（如黏结蛋白聚糖）与一些糖胺聚糖多糖侧链共价连接而形成。两个最常见的蛋白聚糖是硫酸乙酰肝素和硫酸软骨素。硫酸乙酰肝素能结合不同旁分泌因子家族的很多成员，将高浓度的旁分泌因子提供给它们的受体。这个功能看似非常重要。在果蝇、线虫、小鼠中，一些阻止蛋白聚糖中的蛋白质或糖类合成的突变能阻断正常的细胞迁移、形态发生和细胞分化（García-García and Anderson 2003；Hwang et al. 2003；Kirn-Safran et al. 2004）。

这些糖蛋白能将细胞外基质与细胞组织成有序的结构。**纤连蛋白**（**fibronectin**）是一个由众多细胞类型合成的非常大的糖蛋白二聚体（460 kDa）。它的功能之一就是作为一个广谱的黏附分子，将细胞连接在一起或连接到其他细胞外基质，如胶原蛋白和蛋白聚糖。纤连蛋白有多个不同的结合位点，这些位点与适当的分子相互作用，使细胞能与它们的细胞外基质正确排列（图 4.11A）。纤连蛋白在细胞迁移中也有重要作用，因为一些迁移细胞的“道路”是由纤连蛋白铺成的。另外，纤连蛋白形成的路径能引导生殖细胞迁移到生殖腺，或者使心脏细胞迁移到胚胎的中线。如果在鸡胚胎中注射纤连蛋白的抗体，形成心脏的细胞就不能到达中线，出现两个分开的心脏（Heasman et al. 1981；Linask and Lash 1988）。

层粘连蛋白（**laminin**；另一个大的糖蛋白）和 **IV 型胶原蛋白**（**type IV collagen**）是一种称为**基底膜**（**basal lamina**）的一类细胞外基质的主要成分。基底膜的特征是在上皮组织下部形成密集的片状结构（图 4.11B）。上皮细胞在层粘连蛋白上的黏附比间充质细胞对于纤连蛋白的亲和力要大很多，因为如果间充质细胞要进行迁移，它们需要结合和释放纤连蛋白。与纤连蛋白一样，层粘连蛋白对组装细胞外基质、促进细胞黏附和生长、改变细胞形态、促使细胞迁移有作用（Hakamori et al. 1984；Morris et al. 2003）。

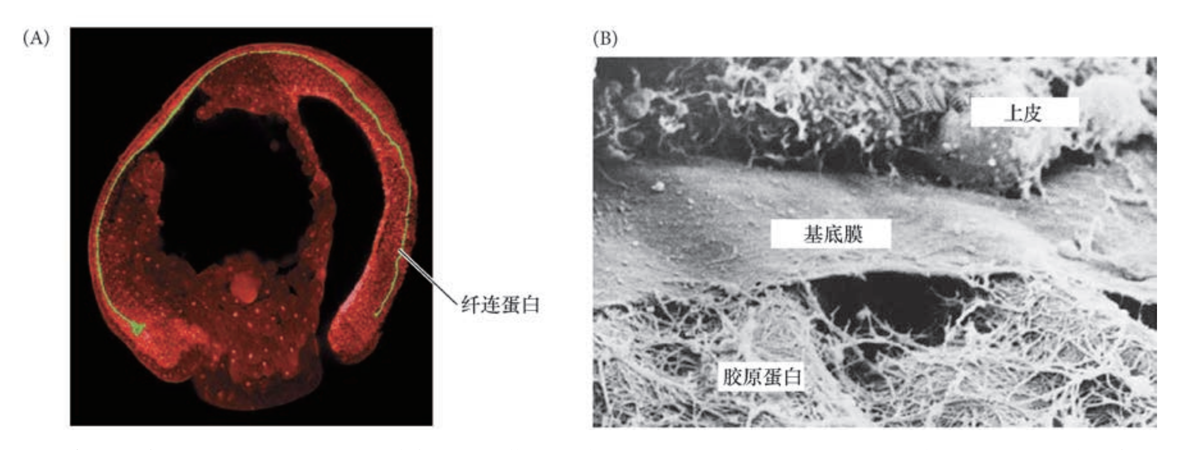


图 4.11 发育胚胎中的细胞外基质。(A) 纤连蛋白的荧光抗体显示非洲爪蛙胚胎（纵切面）在原肠胚形成过程中表达的纤连蛋白呈一条绿色条带样的沉积。纤连蛋白引导中胚层细胞运动的方向。(B) 纤连蛋白将迁移细胞、胶原蛋白、硫酸乙酰肝素及其他细胞外基质连接在一起。这个扫描电镜图显示上皮细胞（上部）与间充质细胞（下部）连接处的细胞外基质。上皮细胞合成一个紧密和富含层粘连蛋白的基底膜；而间充质细胞分泌一个松散和富含胶原蛋白的网状基底膜（A 图由 M. Marsden 和 D. W. DeSimone 提供；B 图由 R. L. Trelsted 提供）。

科学家讲座 4.1 Doug DeSimone 博士和 Tania Rozario 博士关于纤连蛋白在非洲爪蛙原肠胚形成中发挥作用的问答会。

4.3.1　整联蛋白：细胞外基质分子的受体

一个细胞结合黏附性糖蛋白（如层粘连蛋白和纤连蛋白）的能力依赖于它所表达的膜受体；而这些受体是那些细胞外大分子在细胞上的结合位点。纤连蛋白的受体是通过阻断细胞在纤连蛋白上附着的抗体而被鉴别出来的（Chen et al. 1985；Knudsen et al. 1985）。最主要的纤连蛋白受体是一个极大的蛋白质，能在细胞外结合纤连蛋白，有一个跨膜域，并且在细胞内结合细胞骨架蛋白（图 4.12）。

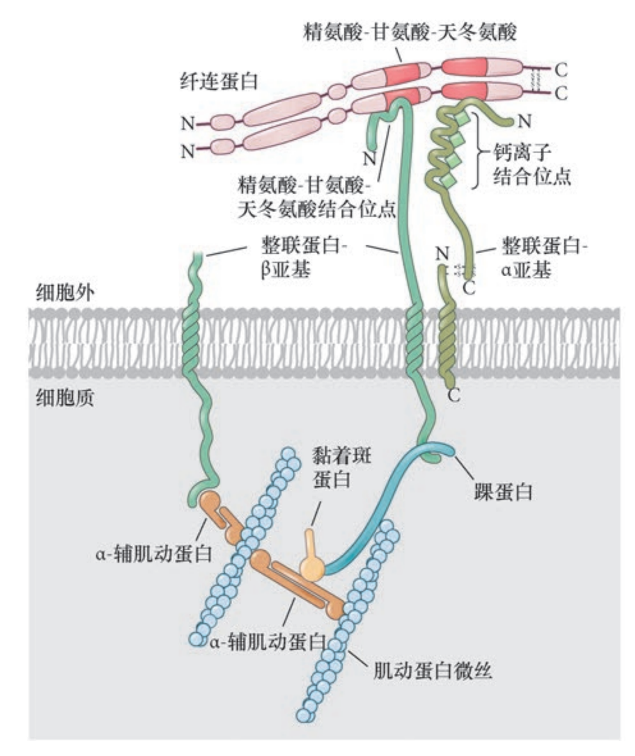


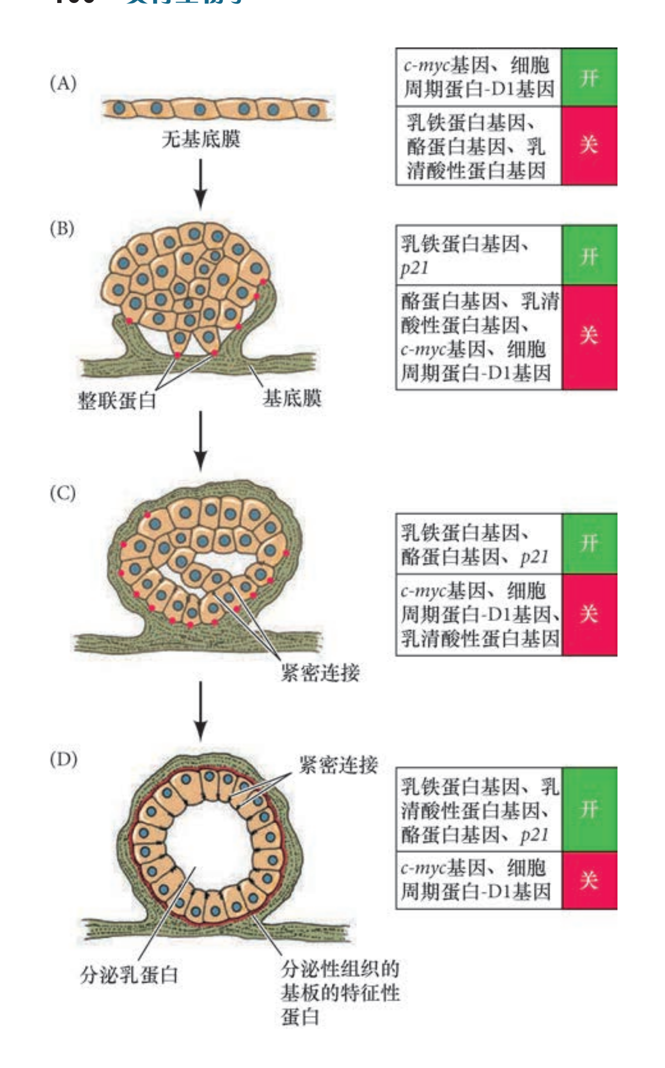
图 4.12　纤连蛋白受体复合物简图。这个复合物中的整联蛋白是一些跨膜蛋白，在细胞外结合纤连蛋白，在细胞内结合细胞骨架蛋白（参考 Luna and Hitt 1992）。

这个家族的蛋白质被称为整联蛋白，因为它们整合一些细胞外和细胞内支架蛋白，使它们协同发挥功能（Horwitz et al. 1986；Tamkun et al. 1986）。在细胞外，整联蛋白结合精氨酸 - 甘氨酸 - 天冬氨酸（RGD）这个氨基酸序列。在很多细胞外黏附蛋白中都有这个序列，包括纤连蛋白、玻连蛋白（表达在眼的基底膜）、层粘连蛋白（Ruoslahti and Pierschbacher 1987）。在细胞内，整联蛋白结合与肌动蛋白微丝连接的踝蛋白和 α- 辅肌动蛋白。这种二重结合使得细胞能通过固定的细胞外基质收缩肌动蛋白微丝进行运动。

整联蛋白也能从细胞外向细胞内传递信号，使基因的表达发生变化（Walker et al. 2002）。Bissell 及其同事（Bissell et al. 1982；Martins-Green and Bissell 1995）证明，整联蛋白在发育的组织中对诱导特定的基因表达起关键作用，尤其是在肝、睾丸和乳腺组织。在乳腺中，细胞外的层粘连蛋白通过整联蛋白传递诱导雌激素受体和酪蛋白基因表达的信号（Streuli et al. 1991；Notenboom et al. 1996；Muschler et al. 1999；Novaro et al. 2003）。

整联蛋白被结合后阻止一些促进细胞凋亡或程序性细胞死亡的基因的激活（Montgomery et al. 1994；Frisch and Ruoslahti 1997）。例如，形成椎骨和肢软骨的那些软骨细胞只能在周围有细胞外基质，并且它们的整联蛋白与基质蛋白结合时才能存活和分化（Hirsch et al. 1997）。如果将发育中的鸡胸骨的软骨细胞孵育在阻断整联蛋白与细胞外基质结合的抗体中，这些细胞将会萎缩并死亡。的确，当连接上皮细胞和细胞外基质的黏着斑被破坏后，胱天蛋白酶依赖的细胞凋亡途径就会被激活，细胞就会死亡。这种“脱离后的死亡”是一种特殊类型的细胞凋亡，称为**脱落凋亡**（**anoikis**），并且有可能是抵御肿瘤的重要手段（Frisch and Francis 1994；Chiarugi and Giannoni 2008）。

尽管针对整联蛋白被结合后抑制细胞凋亡的机制还有争议，细胞外基质能传递一些在核内诱导特定基因表达的信号已经很明确。目前已经鉴别出一些受细胞外基质诱导的基因。小鼠乳腺细胞被铺在塑料的组织培养板上能进行分裂（图 4.13）。的确，在这种情况下，一些促进细胞分裂的基因（c-myc 蛋白、细胞周期蛋白 -D1 的基因）开始表达，而一些促进乳腺分化的基因的产物（酪蛋白、乳铁蛋白、乳清酸性蛋白）没有表达。如果同样的细胞被铺在涂有细胞外基质的培养板上，这些细胞便停止分裂，开始表达乳腺细胞的分化基因。这种情况只发生在乳腺细胞的整联蛋白与细胞外基质的层粘连蛋白结合之后。而后，乳铁蛋白基因和抑制细胞分裂的 *p21* 基因开始表达，而 c-myc 和细胞周期蛋白 -D1 的基因便处于沉默状态。最终，乳腺发育产物的所有基因都表达出来，而细胞分裂基因一直处于关闭状态。这时，乳腺细胞已经被一个基板包裹，形成一个具有乳腺组织特征的分泌性上皮。整联蛋白与层粘连蛋白的结合



袖珍指南

一些关于细胞外基质分子组分和Elizabeth Hay开展的一些实验的视频，她的工作显示了细胞外基质对组织分化的重要性。

图 4.13 乳腺组织中基底膜诱导的基因表达。(A) 小鼠乳腺组织在塑料培养板（无基底膜）上进行分裂。编码细胞分裂蛋白的基因开始表达，而合成乳腺分化产物（酪蛋白、乳铁蛋白、乳清酸性蛋白）的基因不表达。(B) 细胞被铺在基底膜上时，编码细胞分裂蛋白的基因被关闭，而编码抑制细胞分裂蛋白（如 p21）的基因和乳铁蛋白的基因开始表达。(C，D) 乳腺细胞被基底膜包裹，形成分泌性的上皮组织。酪蛋白和乳清酸性蛋白的基因被激活（参考 Bissell et al. 2003）。

对酪蛋白基因的转录至关重要，并且整联蛋白与催乳素蛋白协同作用（见图 4.27），激活酪蛋白基因的表达（Roskelley et al. 1994；Muschler et al. 1999）。

4.4 上皮到间充质转换

一个重要的发育现象，称为**上皮到间充质转换**（**epithelial-mesenchyme transition**，或 **EMT**），整合了到目前为止我们在这一章讨论的所有过程。EMT 是一个使上皮细胞转变成间充质细胞的有序系列事件。在这个转换过程中，一个通过基部表面与基底膜互作的极性化静态上皮细胞变成迁移性的间充质细胞，能侵入到其他组织，在新的位置帮助器官的形成（**图 4.14A**；见 Sleepman and Thiery 2011）。EMT 一般是来自邻近细胞的旁分泌因子在靶细胞中激活基因表达后被启动，这时靶细胞下调钙黏着蛋白的表达，从层粘连蛋白及其他基底膜成分上脱离下来，重排它们的肌动蛋白细胞骨架，分泌一些新的和具有间充质细胞特征的细胞外基质分子。

上皮到间充质转换在发育过程中起重要的作用（**图 4.14B，C**）。在发育过程中，这种活跃转换的例子包括：①神经嵴细胞在神经管最背部区域的形成；②鸡胚胎中胚层的形成，一些原来属于上皮层的细胞变成中胚层并迁移到胚胎内部；③椎骨前体细胞从体节的形成，细胞从体节上脱离下来并沿发育的神经管周围迁移。EMT 在成体中也很重要，它对伤口愈合是必需的。但是，成体中最关键的 EMT 是肿瘤转移，此时，在一个实体肿瘤块上的细胞离开肿瘤块，侵入到其他组织并且在身体的其他位置形成次级肿瘤。这样看来，在胚胎中产生细胞转换的过程在肿瘤中被重新激活，使得肿瘤细胞迁移并且变得具有扩散性。

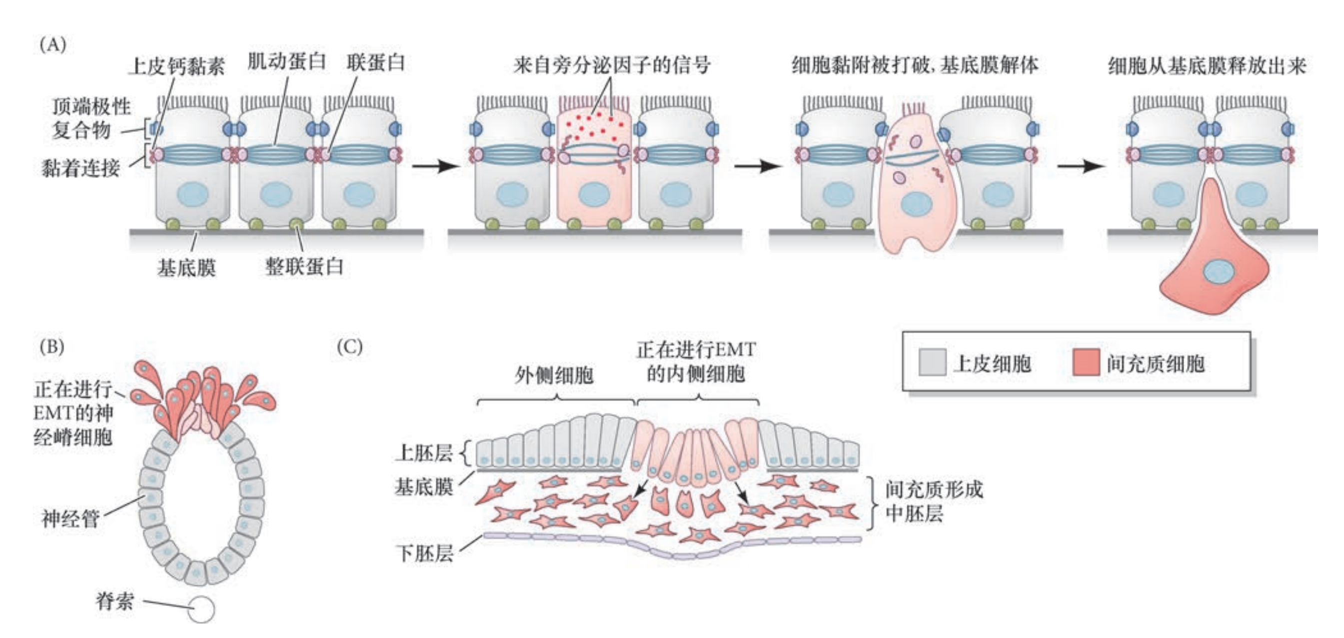


图 4.14　上皮到间充质转换（EMT）。(A) 正常的上皮细胞通过含有钙黏着蛋白、联蛋白、肌动蛋白环的黏着连接互相附着在一起。它们也通过整联蛋白附着在基底膜上。一些旁分泌因子能抑制这些细胞成分的表达，使细胞失去极性，并失去与其他上皮细胞的黏附力。细胞骨架发生重塑，细胞分泌降解基底膜和细胞外基质蛋白的酶，使新形成的间充质细胞开始迁移。(B，C) 在脊椎动物，EMT 发生在神经嵴从神经管背部形成的过程 (B) 和中胚层形成过程中间充质细胞从上胚层的分层 (C)。

在这种情况下，钙黏着蛋白的表达下降，肌动蛋白细胞骨架重组，细胞开始分泌一些酶（如金属蛋白酶）以降解基底膜和间充质的细胞外基质，同时也保持分裂状态（Acloque et al. 2009；Kalluri and Weinberg 2009）。

4.5　细胞信号传递

我们刚了解到细胞与细胞之间的黏附（一种旁分泌性互作）如何影响细胞自身在胚胎中的定位，并且在前几章，我们也讨论了细胞在胚胎中的位置对调节细胞命运的重要性。胚胎中的一个特定位置到底有什么特殊之处以至于它能影响细胞的命运？如你们所知，一个人在幼年时的经历会影响到这个人在成年时的个性、职业选择、饮食偏好。同样，一个细胞在胚胎中某一个位置的经历会影响引导它发育的基因调控网络。因此，真正的问题是：在一个特定的位置，是什么赋予了细胞的经历？

4.5.1　诱导和反应能力

从最早的一些发育时期一直到成体，细胞行为，如黏附、迁移、分化、分裂，都受到来自一个细胞被另外一个细胞所接收的一些信号的调节。的确，这些作用（经常是相互的，我们在后面会描述）就是器官构建的基础。脊椎动物眼的发育是用来描述细胞之间通过相互作用用来完成组织构建的一个典型例子。

在脊椎动物的眼，光通过透明的角膜组织被传递到晶状体，并被晶状体组织聚焦（晶状体的直径受控于肌肉组织），最后投射到神经视网膜组织。所以眼中组织的精确排布受到任何影响后都会干扰它的功能。器官构建过程的这种协调是通过一组细胞改变邻近一些细胞的行为（如形态、有丝分裂速度、细胞命运）来完成的。这类发生在两种或多种具有不同经历和特性的细胞或组织之间的相互作用被称为**诱导**（**induction**）。

诱导和反应能力的定义　在每一种诱导性互作中至少有两个组分。第一个是**诱导物**（**inducer**），这是一个组织，能产生一种（或几种）改变另一个组织的细胞行为的信号。这种信号通常是一个称为旁分泌因子的分泌性蛋白。**旁分泌因子**（**paracrine factor**）是一个细胞或一组细胞分泌的蛋白质，具有改变邻近

细胞的行为或分化的能力。不像内分泌因子（激素）那样能通过血液循环在远距离的细胞或组织中发挥作用，旁分泌因子被分泌到细胞外，只影响近邻的细胞。第二个组分是**应答物**（**responder**），代表受诱导的细胞或组织。应答组织的细胞必须具有诱导因子的受体蛋白和应答这个诱导信号的能力。应答特定诱导信号的能力称为**反应能力**（**competence**），也称为**感受态**（Waddington 1940）。

脊椎动物眼的构建 在脊椎动物眼形成的初期，脑中成对的区域向外凸出并与头部的表面外胚层相接触。头部外胚层具有反应能力，能应答这些脑凸起，即**视泡**（**optic vesicle**）产生的一些旁分泌因子，并且头部外胚层细胞接收到这些旁分泌因子后被诱导形成眼的晶状体。编码晶体蛋白的一些基因在头部外胚层被诱导后表达在后来形成的晶状体细胞。一些被激活的 Rho 家族鸟苷三磷酸酶控制晶状体纤维的延伸和曲度（见第 16 章；Maddala et al. 2008）。而且，预定晶状体细胞分泌一些旁分泌因子，引导视泡形成视网膜。因此，眼的两个主要部分相互诱导，眼也通过相互的旁分泌性互作得以形成。头部外胚层是唯一能应答视泡信号的区域。如果将非洲爪蛙胚胎的一个视泡放置到头部外胚层其他位置的下面，视泡仍能诱导外胚层形成晶状体组织，但是，躯干部的外胚层却不能应答视泡的信号（图 4.15；Saha et al. 1989；Grainger 1992）。所以，只有头部外胚层有能力应答视泡分泌的信号，形成晶状体。

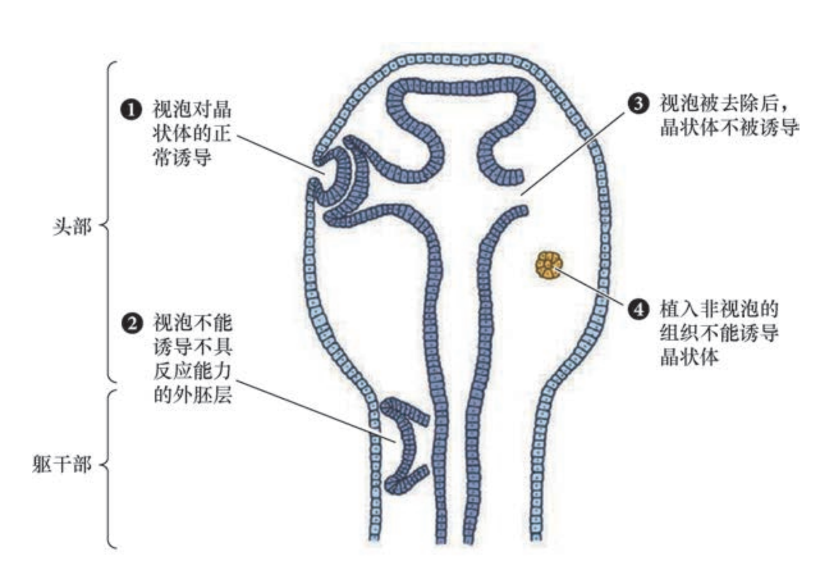


图 4.15 非洲爪蛙外胚层的反应能力和应答视泡诱导物的能力。视泡在外胚层的前部诱导晶状体形成①，但不能在预定躯干部和腹部外胚层诱导晶状体②。如果视泡被去除③，表面外胚层形成一个异常的晶状体或完全不能形成晶状体。很多其他的组织都不能替代视泡④。

通常，一种诱导将赋予一个组织应答另一个诱导物的反应能力。在两栖类的研究显示，晶状体的一些初始诱导信号可能来自前消化管内胚层和形成心脏的中胚层，这两个组织在原肠胚形成的中期和后期都位于将要形成晶状体的外胚层的下部（Jacobson 1963，1966）。神经板前部可能会提供一些后续的信号，诱导出一个能促使 Pax6 转录因子在前部外胚层表达的信号，这对外胚层获得应答视泡信号的反应能力是必需的（图 4.16；Zygar et al. 1998）。因此，尽管视泡被看成是唯一的晶状体诱导物，其实前部外胚层早就受到了至少两个组织的诱导。视泡的位置很像足球赛中踢“制胜”球的一个球员，然而，很多其他球员都帮着把这个球带到位，使那个球员一球成名！

视泡看似分泌两个旁分泌因子：一个是骨形态发生蛋白 -4（Furuta and Hogan 1998），这个蛋白被晶状体细胞接收后诱导一些 Sox 转录因子的表达（见图 4.16；最右侧的图板）；另一个是成纤维细胞生长因子 -8，这是一个诱导 L-Maf 转录因子表达的分泌信号（Ogino and Yasuda 1998；Vogel-Höpker et al. 2000）。我们在第 3 章已经看到，Pax6、Sox2、L-Maf 在外胚层的组合对晶状体的形成和晶状体特异基因（δ- 晶体蛋白的基因）的表达是必需的。Pax6 对外胚层在应答视杯诱导物时的反应能力很重要（Fujiwara et al. 1994）。不管是在果蝇、蛙、大鼠，还是在人类，缺失 *Pax6* 都会导致眼睛完全不能形成或严重变小（Quiring et al. 1994）。野生型和 *Pax6* 大鼠突变体的表面外胚层与视泡的重组实验证明，Pax6 在外胚层的功能对晶状体形成是必需的（图 4.17A，B）。在人类，一系列的眼缺陷都与 *Pax6* 的各种突变相关，这些缺陷包括无虹膜，是一种虹膜变小或缺失的状态（图 4.17C）。在非洲爪蛙中，*Pax6* 突变后显示出与无虹膜显著相似的症状，使得研究人员能够建立 Pax6 在这种人类疾病中的作用模型，并开展更深入的研究（Nakayama et al. 2015）。

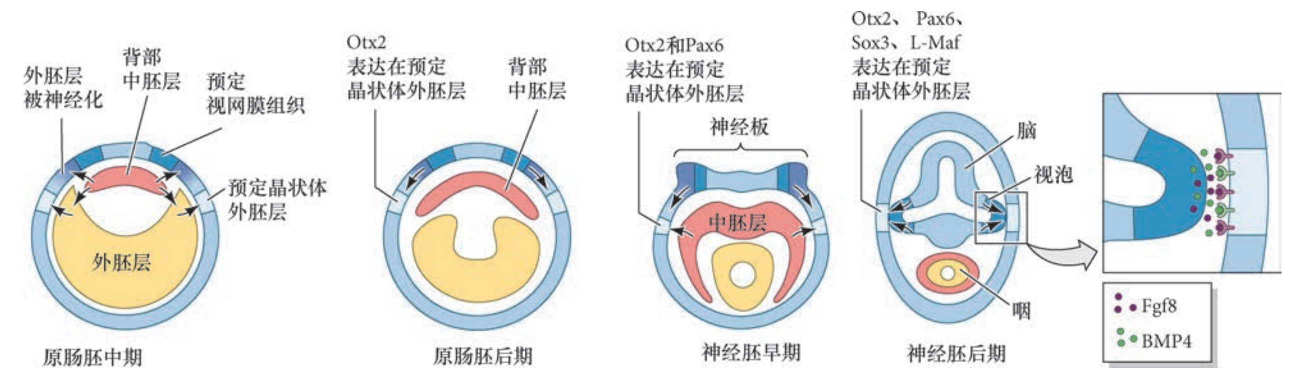


图 4.16　基于非洲爪蛙胚胎中的实验所推测的两栖类晶状体诱导过程。一些不确定的诱导物（有可能来自前消化管内胚层和心脏中胚层）诱导 Otx2 转录因子在原肠胚后期的头部外胚层表达。随着神经褶的隆起，来自神经板前部（包括将要形成视网膜的区域）的诱导物诱导 Pax6 在形成晶状体的前部外胚层表达。Pax6 的表达为表面外胚层提供反应能力，在神经胚后期应答视泡的信号。视泡分泌骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子（见框中高倍放大的信号），诱导一些 Sox 转录因子的表达，并启动晶状体的形成。Fgf8，成纤维细胞生长因子 -8；BMP4，骨形态发生蛋白 -4（参考 Grainger 1992）。

(A)　野生型　*Pax6*突变体

(B)

视泡	表面外胚层	晶状体诱导
野生型	野生型	是
Pax6⁻/Pax6⁻	野生型	是
野生型	*Pax6⁻/Pax6⁻*	否
Pax6⁻/Pax6⁻	*Pax6⁻/Pax6⁻*	否

晶状体

(C)　非洲爪蛙　人类

野生型　虹膜　虹膜

缺失 *Pax6*时虹膜变小（无虹膜）

图 4.17　*Pax6* 基因对蛙、大鼠、人类眼睛的发育都是必需的。(A) 大鼠缺失 *Pax6* 导致眼形成缺陷及鼻部结构明显变小。(B) 通过野生型和完全缺失 *Pax6* 的大鼠胚胎之间视泡与表面外胚层的重组实验分析晶状体的诱导。Pax6 只在表面外胚层对正常的晶状体诱导是必需的。(C) 与野生型比较，非洲爪蛙和人类 *Pax6* 的突变产生类似的眼睛虹膜变小。这种表型是无虹膜症状的特征。*Pax6⁻/Pax6⁻*：*Pax6* 纯合突变体（A 图来自 Fujiwara et al. 1994；B 图的照片由 M. Fujiwara 提供；C 图来自 Yaoita et al. 2015，由 R. M. Grainger 提供）。

4.5.2　相互诱导

诱导的另一个特征是很多诱导作用的相互性。我们仍以晶状体为例。一旦晶状体形成后，它便能诱导其他组织。其中一个应答组织就是视泡本身，因此，诱导物反过来又被诱导。在晶状体分泌的一些因子的影响下，视泡变成视杯，并且视杯分化成两层结构：色素视网膜和神经视网膜（见图 16.8；Cvekl and Piatigorsky 1996；Strickler et al. 2007）。这样的互作称为**相互诱导**（**reciprocal induction**）。

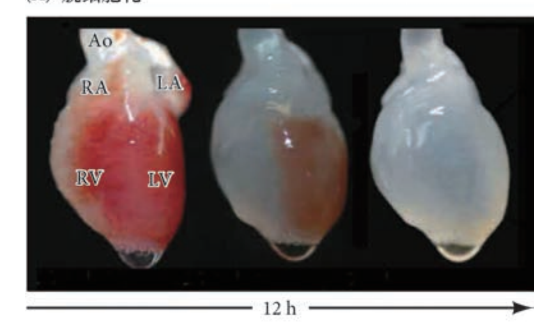
在这样的相互诱导中可以发现另一个原则：一个结构不需要完全分化就能行使一种功能。我们将会

在第 16 章详细描述，视泡在变成视网膜之前就能诱导表面外胚层形成晶状体。相似地，作为回报，发育的晶状体在分化出特征性纤维之前也能对视泡进行诱导。由此可见，在一个组织具备“成体”的功能之前，它就具有一些构建胚胎器官的重要过渡性功能。

指令性和容许性相互作用 Howard Holtzer（1968）区分出两种主要的诱导互作方式。在**指令性相互作用**（**instructive interaction**）中，来自诱导性细胞的一个信号对应答细胞启动新的基因表达是必要的。没有这个诱导，应答细胞就不能向特定的方向分化。例如，一个指令性相互作用的例子是，非洲爪蛙胚胎的视泡通过实验的方法被植入到头部新的位置时，能诱导这个位置的外胚层形成晶状体。

第二种类型的诱导互作方式是**容许性相互作用**（**permissive interaction**）。在这里，应答组织早已被特化，只需要一个能使它呈现特征的环境。例如，很多组织需要细胞外基质才能发育。细胞外基质不改变已经产生的细胞类型，但它能使已经被决定的特征表达出来[1]。一个非常显著的容许性相互作用的例子来自再生医学领域，那就是一个细胞外基质支架能促进分化和重建一个跳动的心脏。Doris Taylor 的研究组用洗涤剂将一个死亡大鼠心脏中的所有细胞去除，剩下的只有自然的细胞外基质（**图 4.18A**；Ott et al. 2008）。一些像纤连蛋白、胶原蛋白、层粘连蛋白的蛋白质将其他细胞外基质维持在一起，并使心脏保持复杂的形态。然后，研究人员向这个细胞外基质支架中注入心肌细胞。使人惊讶的是，这些细胞经历了分化并组织成一个有功能的收缩性“重细胞化”的心脏（**图 4.18B**）。所以，脱细胞化的细胞外基质环境条件对心肌细胞重建收缩性的心脏肌肉具有容许性作用。我们将在第 5 章介绍更多关于再生医学的信息。

(A) 脱细胞化



(B) 重细胞化的跳动心脏

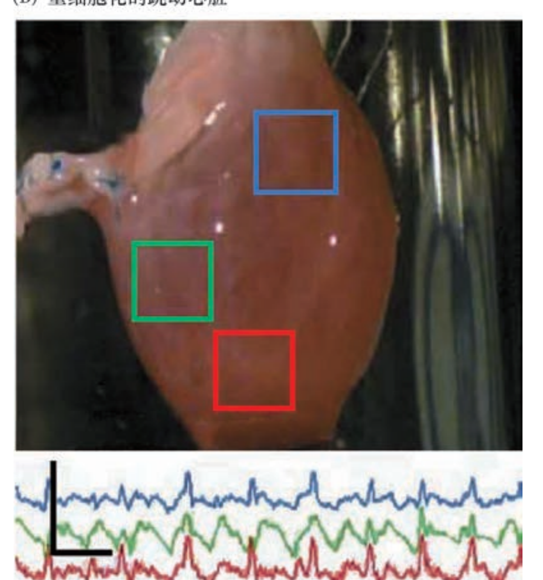


图 4.18 重建一个脱细胞的大鼠心脏。(A) 用洗涤剂 SDS（十二烷基硫酸钠）在 12 h 内对死亡大鼠的整个心脏进行脱细胞化（去除所有的细胞）。脱细胞化的进程在图中是自左向右。Ao，主动脉；LA，左心房；LV，左心室；RA，右心房；RV，右心室。(B) 脱细胞化的心脏被安置到一个生物反应器，然后用新生大鼠的心脏细胞进行重细胞化，这些细胞发育成自我收缩的心肌细胞，并能使心脏跳动。局部心电图示踪显示三个心脏区域的同步收缩（蓝色、绿色、红色曲线）（来自 Ott et al. 2008）。

拓展性问题

尽管重建一个脱细胞化的心脏是容许性相互作用的一个明显的例子，是不是也可能有指令性相互作用？目前有研究显示，源于诱导多能干细胞的心血管祖细胞能成功地使一个脱细胞化的小鼠心脏重细胞化，并分化成心肌细胞、平滑肌和内皮细胞（Lu et al. 2013）。细胞外基质提供了哪些信息，直接影响这些祖细胞分化成各种类型的细胞？

[1] 很容易打一个比方来区分指令性和容许性相互作用。这本书是因为有容许性和指令性相互作用才得以完成。一个审稿人能说服我们去修改一些章节的内容，这是指令性相互作用，因为书中原来的信息有了改动。但是，如果没有出版商和印刷商的容许性相互作用，书中的新内容就根本不可能表达出来。



科学家讲座 4.2　Doris Taylor 博士关于脱细胞器官用于再生的问题。

4.5.3　上皮与间充质的相互作用

研究最多的一些诱导事件是上皮细胞与邻近间充质细胞之间的相互作用。所有的器官都是由一个上皮层和一个相联结的间充质组成，所以，这些相互作用是自然界最重要的现象之一。**表 4.1** 中列举了一些这样的例子。

表 4.1　上皮与间充质的部分相互作用

器官	上皮成分	间充质成分
皮肤结构（毛发、羽毛、汗腺、乳腺）	表皮（外胚层）	真皮（中胚层）
肢	表皮（外胚层）	间充质（中胚层）
消化器官（肝、胰腺、唾液腺）	上皮（内胚层）	间充质（中胚层）
前肠和呼吸相关器官（肺、胸腺、甲状腺）	上皮（内胚层）	间充质（中胚层）
肾	输尿管芽（中胚层）	间充质上皮（中胚层）
牙	颌上皮（外胚层）	间充质（神经嵴）

诱导的区域特异性　以表皮（皮肤）结构的诱导作为例子，我们来看一下上皮与间充质之间相互作用的特性。其中一个特性就是诱导的区域特异性。皮肤由两个主要的组织构成：一层表皮（来自外胚层的上皮组织）和一层真皮（来自中胚层的间充质组织）。鸡的表皮分泌一些指令下部真皮细胞进行致密的蛋白质，然后致密的真皮间充质予以应答，分泌一些使上皮形成区域特异性皮肤结构的因子（Nohno et al. 1995；Ting-erreth and Chuong 1996）。这些结构包括翅上的宽羽毛、腿上的窄羽毛、足上的鳞片和爪（**图 4.19**）。真皮间充质为具有反应能力的表皮上皮赋予了诱导的区域特异性。研究人员将胚胎的上皮和间充质分离，然后以不同的方式进行重新组合（Saunders et al. 1957）。重组后，上皮根据间充质在胚胎的位置而发育成皮肤结构。所以，间充质发挥了一个指令性的作用，在应答的上皮细胞中诱导不同基因的表达。

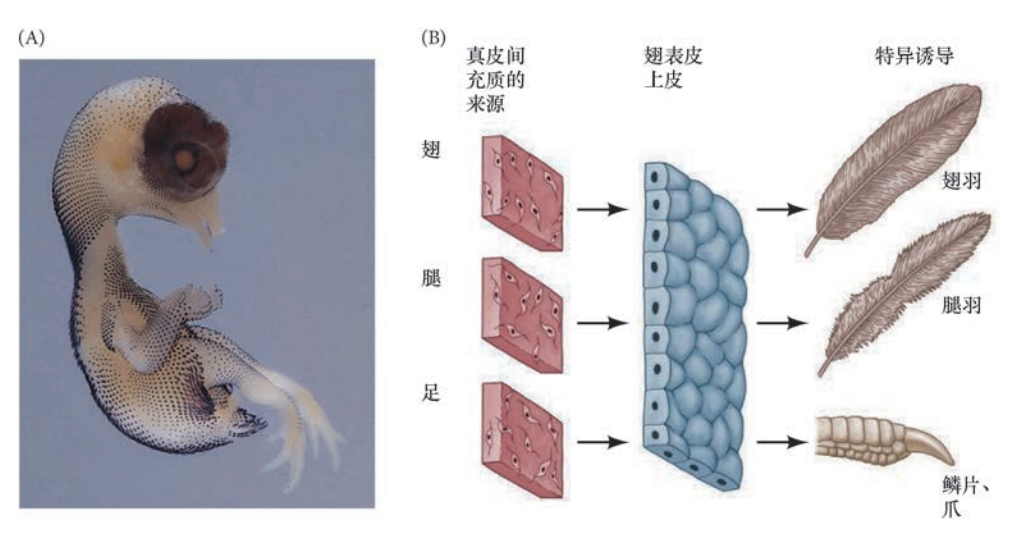


图 4.19　皮肤羽毛的诱导。(A) 第 10 天鸡胚胎的原位杂交显示 *Sonic hedgehog* 基因在发育的羽毛和鳞片外胚层表达（黑点）。(B) 鸡真皮（间充质）不同区域的细胞与翅表皮（上皮）重组后，表皮上皮组织形成的皮肤结构受控于间充质的来源（A 图由 W.-S. Kim 和 J. F. Fallon 提供；参考 Saunders 1980）。

诱导的遗传特异性　上皮与间充质之间相互作用的第二个特性是诱导的遗传特异性。尽管间充质可以指令上皮激活哪些基因，但应答的上皮只能在基因组许可的情况下才能响应这些指令。这个特性是在物种之间进行组织移植实验时被发现的。

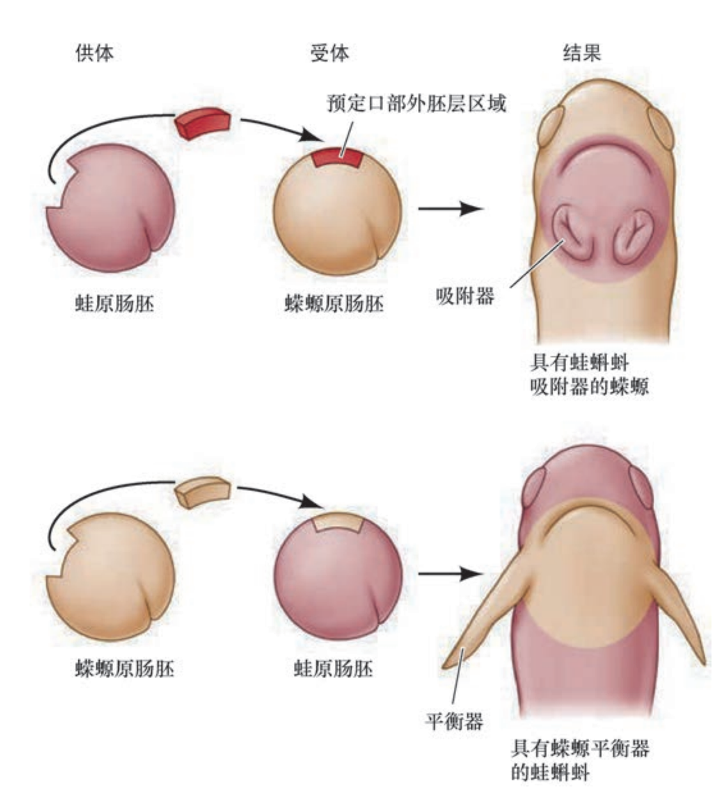


图 4.20 两栖类中诱导的遗传特异性。蝾螈和蛙原肠胚预定口部外胚层之间的相互移植使蝾螈的蝌蚪具有吸附器，而蛙的蝌蚪具有蝾螈的平衡棒（参考 Hamburgh 1970）。

在一个最显著的种间诱导的例子中，Hans Spemann 和 Oscar Schotté（1932）将一个蛙的早期原肠胚侧部外胚层移植到一个蝾螈原肠胚预定变成口部的位置。类似地，他们也进行了反方向的移植。蝾螈和蛙幼体的口部结构存在很大的差异。蝾螈幼体的口下部有一对棒状的平衡器，而蛙的蝌蚪在类似位置形成黏液分泌腺和吸附器。蛙的蝌蚪也有带牙齿的角质颌，而蝾螈的颌上有一组钙质的齿。具有移植物的幼体是嵌合体。蝾螈幼体长出了蛙样的口，而蛙的蝌蚪产生了蝾螈的齿和平衡器（图 4.20）。换句话说，间充质指令外胚层形成了一个口部，外胚层也做出了应答，但只会形成它“知道”的那种口部，哪怕是很不恰当[2]。

因此，间充质发出的指令能跨越物种之间的障碍。蝾螈能应答蛙的诱导物，鸡的组织能应答哺乳动物的诱导物。但是，上皮组织的应答是物种特异的。所以，尽管器官类型的特异性（如羽毛或爪）通常受控于间充质，但物种特异性通常受控于应答的上皮组织。我们会在第 26 章看到，形态上重要的进化变异可以通过改变对一个特定诱导物的应答来实现。

4.5.4 昆虫气管：诱导信号与钙黏着蛋白调节的结合

在这一章的前面我们描述了钙黏着蛋白与肌动球蛋白的皮质收缩在组织形态发生过程中介导细胞之间黏附的共同作用。来自细胞外的指令能通过钙黏着蛋白与肌动球蛋白的调节机制影响细胞形态的变化。例如，果蝇胚胎的气管（呼吸）系统发育自一些上皮囊。在每个上皮囊中，大约 80 个细胞在没有任何分裂或死亡的情况下重新组织成初级、次级和三级分支（Ghabrial and Krasnow 2006）。这种重新组织被邻近细胞分泌的一个称为 Branchless 的蛋白质所启动，这个蛋白质具有**趋化物**（**chemoattractant**）的功能（通常是一些扩散性分子，能吸引一个细胞沿逐渐升高的浓度梯度向分泌这个因子的源头迁移[3]）。Branchless 蛋白结合上皮细胞的一个膜受体。接收 Branchless 蛋白最多的细胞引导其他细胞的迁移，而那些后随的细胞（被钙黏着蛋白连接在一起）接收来自前导细胞的信号后形成气管（图 4.21）。前导细胞改变形态（通过 Rho 家族鸟苷三磷酸酶介导的过程，重排肌动蛋白和肌球蛋白细胞骨架）进行迁移后形成次级分支。在迁移过程中，钙黏着蛋白受到调节，以至于上皮细胞在维持上皮组织完整性的状态下互相连接地迁移而形成一个管（Cela and Llimagas 2006）。

但是，这个过程也需要一个外部的力量。上皮囊最背部的次级分支沿发育的肌细胞之间所形成的一个沟运动。这些三级细胞迁移使得气管围着肌肉组织被分隔（Franch-Marro and Casanova 2000）。通过这种方式，呼吸管在紧邻幼体肌肉组织的位置形成。

---

[2] 据报道 Spemann 是这样说的：“外胚层对诱导物说，‘你让我做一个口；没问题，我可以去做，但我不会做你那种口；我只会做我自己这种口，并且也将那样做’”（引自 Harrison 1933）。

[3] 也有将迁移细胞引至相反方向的斥化因子。一般来说，趋化因子（使细胞向特定方向运动的可溶性因子）是假定具有趋化性的，除非另有说明。

4.6　旁分泌因子：诱导物分子

诱导物和应答者之间的信息是如何传递的？在研究肾小管和牙齿形成的机制时，Grobstein（1956）及其他人（Saxén et al. 1976；Slavkin and Bringas 1976）发现，一些诱导事件在上皮和间充质细胞之间被一个过滤纸隔开时仍然能够发生。但另一些诱导事件却能被过滤纸阻断。因此，这些研究人员得出这样的结论：一些诱导物属于可溶性分子，能穿过滤纸的小孔，而其他诱导事件需要上皮与间充质细胞之间的物理接触。

当一个细胞表面的膜蛋白与相近细胞表面的受体蛋白相作用时（如钙黏着蛋白之间的互作），这个事件称为**近分泌相互作用**（**juxtacrine interaction**），因为细胞膜是并排在一起的。当一个细胞合成的一些蛋白质能在短距离内扩散，并能诱导一些邻近的细胞改变状态时，这个事件称为**旁分泌相互作用**（**paracrine interaction**）。旁分泌因子属于扩散性分子，能在大约 15 个细胞直径，或 40 ～ 200 μm 的范围内起作用（Bollenbach et al. 2008；Harvey and Smith 2009）。

一种特殊类型的旁分泌相互作用是**自分泌相互作用**（**autocrine interaction**）。这种互作是分泌一些旁分泌因子的细胞自身也应答这些因子。也就是说，一个细胞也具有它所合成的分泌因子的受体。尽管自分泌调节并不很常见，但在胎盘的细胞滋养层细胞中存在这种情况；这些细胞合成并分泌血小板源性生长因子，且膜上有这个因子的受体（Goustin et al. 1985）。结果是导致了这个组织的激烈增殖。

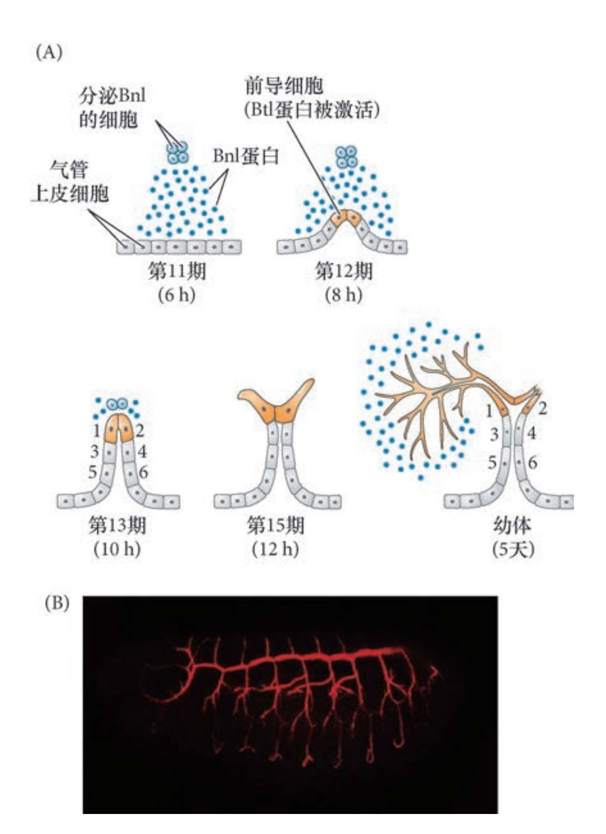


图 4.21　果蝇气管的发育。（A）背部气管分支从气管上皮萌芽的示意图。邻近的细胞分泌 Branchless 蛋白（Bnl；蓝点），在气管细胞中激活 Breathless 蛋白（Btl）。被激活的 Breathless 蛋白诱导前端细胞的迁移和气管的形成；背部分支的细胞用 1 ～ 6 表示。Bnl 蛋白也诱导单细胞次级分支（第 15 期）。（B）红色荧光抗体显示果蝇幼体的气管系统。注意间生式的分支图式（A 图参考 Ghabrial and Krasnow 2006；B 图来自 Casanova 2007）。

4.6.1　形态发生素梯度

控制细胞命运特化的重要机制之一是调节基因表达的旁分泌因子梯度，这样的信号分子称为形态发生素。**形态发生素**（**morphogen**，希腊语“形态给予者”）属于扩散性的生化分子，能通过其浓度来决定一个细胞的命运[4]。也就是说，接触高浓度形态发生素的一些细胞与接触低浓度形态发生素的另一些细胞之间的基因表达有明显的差异。形态发生素可以是存在于核合胞体中的一些转录因子，如果蝇的胚盘（见第 2 章）。它们也可以是一组细胞分泌的一些旁分泌因子，然后被运送到另一组细胞，根据形态发生素的浓度，将靶细胞特化成类似或不同的命运。接触高浓度形态发生素的命运未定向细胞（最接近形态发生素的源头）将被特化成一种类型的细胞。当形态发生素的浓度降低到某一个阈值时，就会特化另一种不同的细胞命运。当这个浓度继续降低时，就会以第三种方式特化一个命运未定向的细胞（图 4.22）。

[4] 尽管在术语上有重叠，一个形态发生素以定量的方式特化细胞（“或多或少”），而一个形态发生决定物以定性的方式特化细胞（“存在或不存在”）。形态发生素产生量反应，形态发生决定物产生质反应。

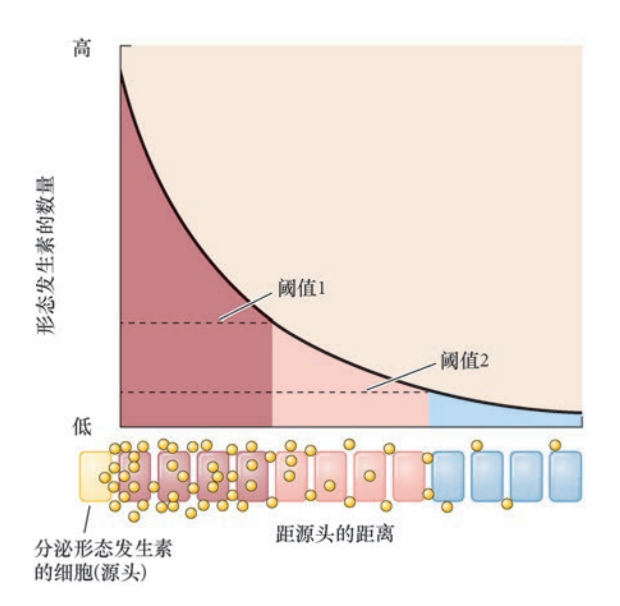


图 4.22 均质的细胞被形态发生素的梯度特化成三种细胞类型。形态发生素旁分泌因子（黄点）被源头细胞（黄色）分泌后在应答组织中形成一个浓度梯度。细胞接触的形态发生素浓度高于阈值 1 时，一些基因被激活（红色）。细胞接触到居中浓度时（阈值 1 和 2 之间），另一组基因被激活（粉色），同时，被高浓度诱导的基因受到抑制。细胞接触的形态发生素浓度低于阈值 2 时，第三组基因被激活（蓝色）（参考 Rogers and Schier 2011）。

发育辅导课 形态发生素信号传递 **Michael Barresi 博士关于一些形态发生素信号传递方式的讲座和演示。**

在非洲爪蛙，用激活蛋白（一个 TGF-β 家族的旁分泌因子）特化不同类型的中胚层细胞，人们优雅地证明了旁分泌因子浓度梯度对这个过程的调节（**图 4.23**；Green and Smith 1990；Gurdon et al. 1994）。将释放激活蛋白的珠子植入非洲爪蛙早期胚胎的一些未特化的细胞之间时，激活蛋白就会从珠子上扩散出来。在高浓度时（每个细胞大约 300 个分子），激活蛋白诱导 *goosecoid* 基因的表达，该基因编码一个

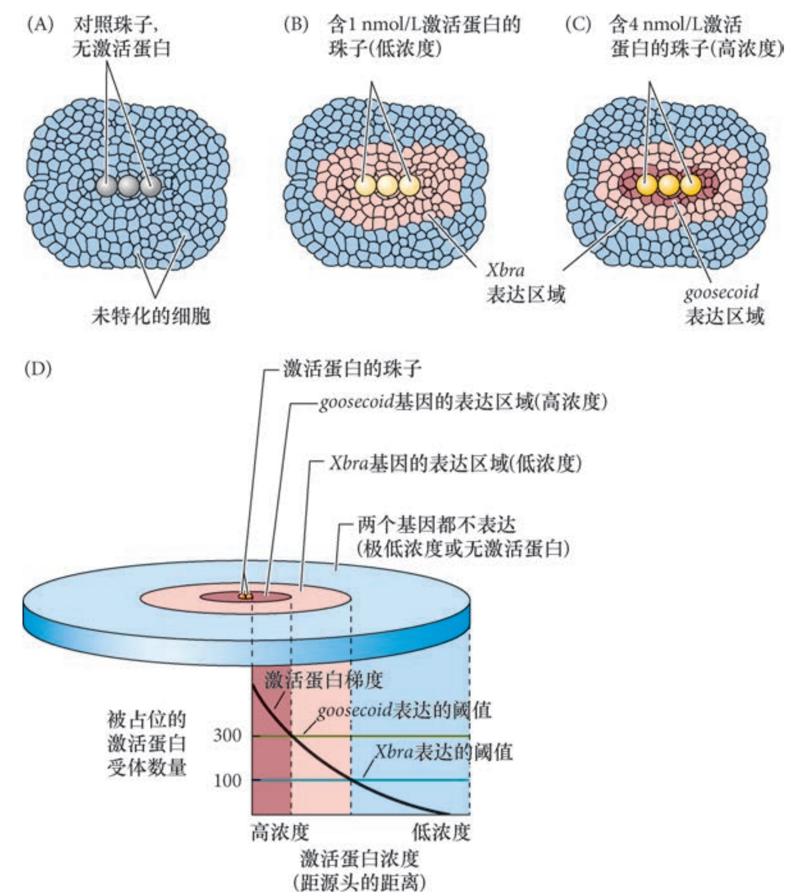


图 4.23 形态发生素旁分泌因子激活蛋白（activin）梯度在未特化的两栖类胚胎细胞中引起两个基因的浓度依赖性表达差异。(A) 不含激活蛋白的珠子不能激活 *Xbra* 和 *goosecoid* 这两个基因的表达（即 mRNA 的转录）。(B) 含有 1nmol/L 的激活蛋白的珠子在邻近细胞中诱导 *Xbra* 基因的表达。(C) 含有 4nmol/L 的激活蛋白的珠子只在距珠子几个细胞直径的距离处诱导 *Xbra* 基因的表达。但是，可在珠子附近观察到 *goosecoid* 基因表达的一个区域。因此，*Xbra* 基因被特定浓度的激活蛋白诱导，而 *goosecoid* 基因被高浓度的激活蛋白诱导。(D) 对非洲爪蛙中激活蛋白梯度的解释。高浓度的激活蛋白诱导 *goosecoid* 基因表达，低浓度的激活蛋白诱导 *Xbra* 基因的表达。有可能存在一个决定细胞表达 *goosecoid* 基因、*Xbra* 基因，或不表达两个基因的阈值。另外，Brachyury 蛋白（爪蛙 *Xbra* 基因的蛋白产物）抑制 *goosecoid* 基因的表达，进而建立一个明确的边界。这个图式与每个细胞上激活蛋白受体被配体占位的数量有关（参考 Gurdon et al. 1994；Dyson and Gurdon 1998）。

特化最背部结构的转录因子。在稍微低浓度的激活蛋白条件下（每个细胞大约 100 个分子），同样的组织表达 *Xbra* 基因并变成肌肉。在更低浓度时，*goosecoid* 基因和 *Xbra* 基因都不能被激活，“默认”状态的基因表达指令这些细胞变成血管和心脏（Dyson and Gurdon 1998）。

旁分泌因子的作用范围（也反映了它的形态发生素梯度状态）受这个因子的合成、转运、降解等多种因素决定。在某些情况下，一些细胞表面分子能稳定旁分泌因子并协助其扩散，而在另一些情况下，细胞表面成分妨碍扩散并促进降解。形态发生素与细胞外基质之间的这种扩散性调节互作对协调器官的生长和形态具有很重要的作用（Ben Zvi et al. 2010，2011）。

众多器官的诱导都依赖于相对较少的一组旁分泌因子，这些旁分泌因子通常作为形态发生素发挥作用。胚胎继承了一个很紧凑的遗传“工具箱”，并且使用很多相同的蛋白质来构建心脏、肾、牙齿、眼睛和其他器官。此外，同样的一些蛋白质也被用于整个动物界，例如，形成果蝇的眼或心脏所需要的一些因子与产生哺乳动物相同器官所需要的那些因子非常相似。基于它们的结构，很多旁分泌因子可以被归类为以下四个主要的家族之一：

1. 成纤维细胞生长因子（FGF）家族；
2. Hedgehog 家族；
3. Wnt 家族；
4. 转化生长因子 -β（TGF-β）超家族，包括转化生长因子 -β 家族、激活蛋白家族、骨形态发生蛋白（BMP）、Nodal 蛋白、Vg1 蛋白，以及其他一些相关的蛋白质。

4.6.2　信号转导级联反应：对诱导物的应答

如果一个配体要在一个细胞中激活一种细胞反应，它必须结合一个受体，然后这个受体在细胞内启动调节这个反应的一系列事件。旁分泌因子通过结合一个能够在细胞内起始一系列酶促反应的受体而发挥作用。这些酶促反应的终点是对转录因子的调节（导致细胞对旁分泌因子做出反应，表达不同的基因），以及（或者）对细胞骨架的调节（使应答旁分泌因子的细胞改变形态或能够迁移）。这些针对旁分泌因子所产生的应答途径通常有多个终点，而这些途径被称为**信号转导级联反应**（**signal transduction cascade**）。

一些主要的信号转导途径看似都演变自一个共同而且很简练的主题，如图 **4.24** 所示。一个受体穿越细胞膜，所以它具有一个细胞外区域、一个跨膜区域、一个细胞内区域。当一个旁分泌因子与受体的细胞外结构域结合时，它就会诱导受体产生构象变化。这种形状的变化通过细胞膜传导至细胞内，进而改变受体的细胞内结构域形状，使这个结构域具备激活一些细胞质蛋白的能力。通常，这样一个构象变化使细胞内结构域具有酶活性，一般是一个激酶活性，使它能够利用 ATP 对一些特殊蛋白的特定酪氨酸残基进行磷酸化。因此，这种类型的受体通常称为**受体酪氨酸激酶**（**receptor tyrosine kinase，RTK**）。活化的受体催化一些使其他蛋白质发生磷酸化的反应，而这种磷酸化能激活这些蛋白质的潜在活性。最后，这个磷酸化的级联反应激活一个休眠状态的转录因子或一组细胞骨架蛋白。

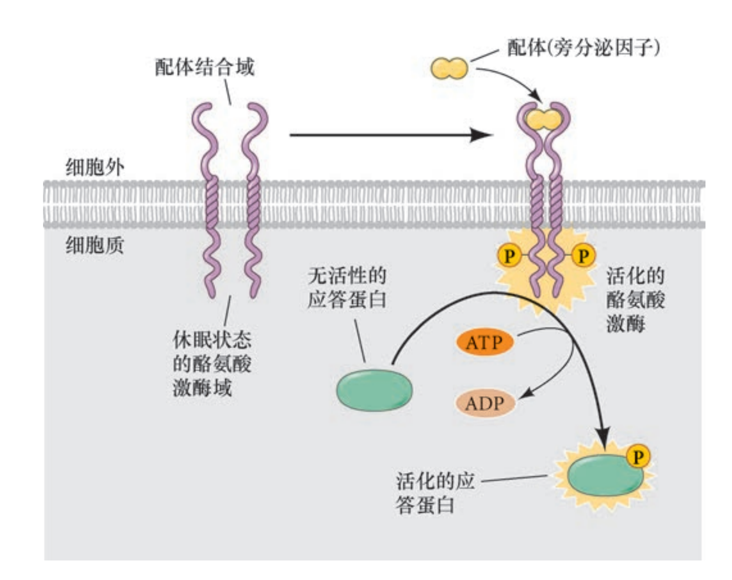


图 4.24　受体酪氨酸激酶的结构和功能。一个旁分泌因子（如成纤维细胞生长因子 -8）与受体蛋白的细胞外部分结合后激活休眠状态的酪氨酸激酶，使两个相同的受体互相磷酸化，然后使一些细胞内蛋白的特定酪氨酸残基发生磷酸化。

下面我们将描述这四个旁分泌因子家族的

一些主要特征，包括它们的分泌方式、梯度控制，以及在应答细胞中的信号转导机制。而每个旁分泌因子在各种发育过程中的独特作用将会在全书中予以讨论。

4.6.3 成纤维细胞生长因子及受体酪氨酸激酶途径

成纤维细胞生长因子（**fibroblast growth factor，FGF**）家族的旁分泌因子包括20多个结构相关的成员，并且FGF的基因在不同组织中通过改变RNA剪接或起始密码子能产生几百种蛋白异构体（Lappi 1995）。Fgf1蛋白也被称为酸性FGF，可能在再生过程中有重要作用（Yang et al. 2005）；Fgf2有时被称为碱性FGF，对血管形成有非常重要的作用；Fgf7的另外一个名称是角质细胞生长因子，对皮肤发育至关重要。尽管很多FGF可以互相代替，它们以及它们的受体的表达图式使它们具有不同的功能。

这个家族的一个成员——Fgf8，在体节分节、肢发育和晶状体诱导中尤为重要。Fgf8在与头部外胚层相接触的视泡中表达（图4.25A；Vogel-Höpker et al. 2000）。当视泡接触外胚层时，*Fgf8*基因的表达便开始集中在预定神经视网膜区域，而这个区域直接与预定晶状体相接触（图4.25B）。而且，如果将含Fgf8的珠子[5]植入邻近头部外胚层的位置，异位的Fgf8将诱导外胚层形成异位的晶状体，并表达晶状体相关转录因子L-Maf（图4.25C）。FGF通过激活一组称为**成纤维细胞生长因子受体**（**fibroblast growth factor receptor，FGFR**）的受体酪氨酸激酶而发挥功能。例如，Branchless蛋白是果蝇的一个FGFR。

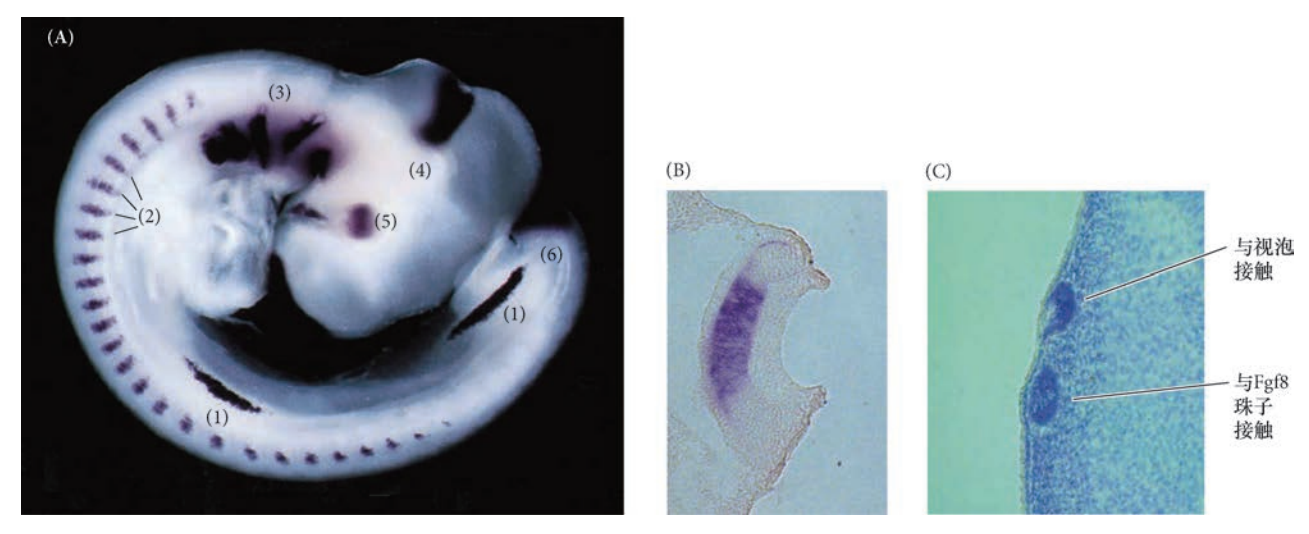


图4.25 成纤维细胞生长因子-8（Fgf8）在鸡胚胎发育过程中的作用。（A）原位杂交显示*Fgf8*基因在第3天的鸡胚胎的表达图式。*Fgf8*（暗色区域）表达在肢牙外胚层的最远端（1）、体节中胚层（即沿前-后轴方向的分节块）（2）、颈部的鳃弓（3）、中脑和后脑边界（4）、眼的视泡（5）、尾部（6）。（B）视泡中*Fgf8*的原位杂交。*Fgf8*的mRNA（紫色）表达在视杯的预定神经视网膜，并与将要形成晶状体的外胚层直接接触。（C）视泡（上部）或含Fgf8蛋白的珠子（下部）能诱导具有反应能力的外胚层异位表达L-Maf（A图由E. Laufer，C.-Y. Yeo和C. Tabin提供；B图和C图由A. Vogel-Höpker提供）。

一个FGFR结合一个FGF配体后（并且只有在它结合配体后），休眠状态的激酶被激活，然后在应答细胞内磷酸化一些蛋白质（包括其他的FGFR）。这些蛋白质被激活后就能行使新的功能。**受体酪氨酸激酶途径**（**RTK pathway**）是首个将发育生物学的各个领域联系在一起的信号转导途径（图4.26）。在研究果蝇的眼、线虫的阴门及人的肿瘤时，人们发现他们都在研究一些相同的基因！

成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、血小板源性生长因子及干细胞因子都是结合受体酪氨酸激酶的旁分泌因子。每个受体酪氨酸激酶只能结合一个（或一小组）这样的配体，并且，稳定的结合需要另外一个成分，即硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或称HSPG（Mohammadi et al. 2005；Bökel and Brand 2013）。受体酪氨酸激酶与配体结合后发生构象变化，与另一个受体酪氨酸激酶形成二聚体。这个构象变化刺激每个

[5] 人工合成的珠子可以被涂上蛋白质并被植入胚胎组织。附着在珠子上的蛋白质逐渐从珠子上释放出来并径向扩散，形成一个浓度梯度。

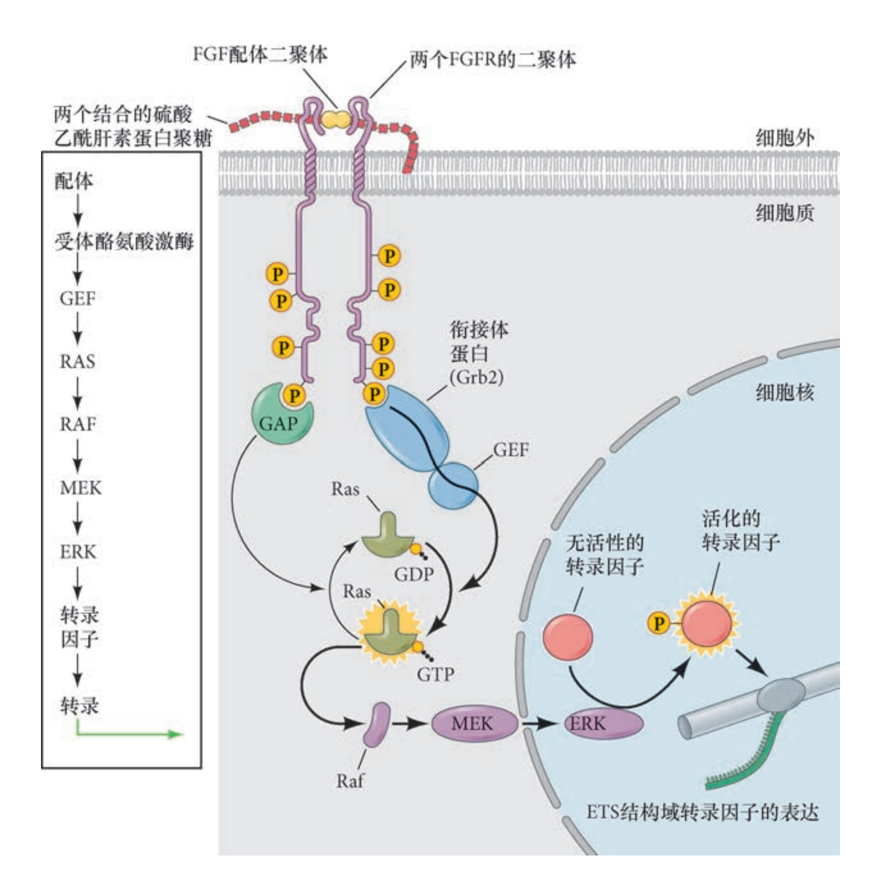


图 4.26　成纤维细胞生长因子（FGF）激活广泛使用的受体酪氨酸激酶途径。配体（一个旁分泌因子，如 FGF）与硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（HSPG）共同使受体酪氨酸激酶形成二聚体和自磷酸化。衔接体蛋白（Grb2）识别受体酪氨酸激酶上特定的磷酸化酪氨酸并激活鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF），GEF 使 GDP 结合型的小 G 蛋白 Ras 磷酸化后将其激活。同时，GTP 酶激活蛋白（GAP）刺激水解磷酸键，使 Ras 恢复到无活性状态。Raf 蛋白激酶 C 被活化的 Ras 激活后转而激活一系列的激酶，如促分裂原活化的胞外信号调节激酶激酶（MEK）。最后，被激活的胞外信号调节激酶（ERK）使一些转录因子（在细胞核内改变基因转录的类型）或一些翻译因子（改变蛋白质合成的水平）发生磷酸化。通过这种方式，应答细胞中的基因表达受到调节。在很多情况下，这个途径能被钙离子的释放所增强。左图是这个途径的简化版。FGFR：成纤维细胞生长因子受体；Grb2：生长因子受体结合蛋白 -2。

受体酪氨酸激酶的潜在激酶活性，使得它们互相磷酸化特定的酪氨酸残基（见图 4.26）。因此，旁分泌因子与它的受体结合后使二聚体受体的细胞质结构域产生一连串的自磷酸化。受体的磷酸化酪氨酸被一个衔接体蛋白识别，然后这个衔接体蛋白介导磷酸化的受体酪氨酸激酶对细胞内下游信号转导系统的激活。

衔接体蛋白不但结合其中一个磷酸化的受体酪氨酸激酶的细胞质结构域，它也激活一个小 G 蛋白，如 Ras 蛋白（大鼠肉瘤基因编码的蛋白质）。一般情况下，小 G 蛋白处于无活性的 GDP 结合状态。活化的受体刺激衔接体蛋白激活**鸟嘌呤核苷酸交换因子**（**GTP exchange factor**，**GEF**），也称为**鸟嘌呤核苷酸释放因子**（**guanine nucleotide releasing factor**，**GNRF**）。GEF 催化 GDP 与 GTP 的交换。结合 GTP 的小 G 蛋白是一个激活的形式，将信号传递到下一个分子。完成信号传递后，小 G 蛋白上的 GTP 被水解成 GDP。这个催化作用在很大程度上受控于 Ras 蛋白与 **GTP 酶激活蛋白**（**GTPase-activating protein**，**GAP**）的结合。以此方式，小 G 蛋白便恢复到无活性状态，等待进一步的信号输入。在没有 GAP 蛋白时，Ras 蛋白不能有效地水解 GTP，所以会长时间处于激活状态（Cales et al. 1988；McCormick 1989）。在人类，*RAS* 基因的突变会引起很多种肿瘤的发生（Shih and Weinberg 1982），而且，致瘤性的 *RAS* 基因突变都抑制 GAP 蛋白的结合。

活化的小 G 蛋白 Ras 与一个称为 Raf 的激酶结合。小 G 蛋白将无活性的 Raf 激酶招募到细胞膜后将其激活（Leevers et al. 1994；Stokoe et al. 1994）。Raf 激酶通过磷酸化促分裂原活化的胞外信号调节激酶激酶（MEK）使其激活；然后 MEK 磷酸化胞外信号调节激酶（ERK），也将其激活。接下来，ERK 进入细胞核并磷酸化一些转录因子，其中很多都是 Pea3/Etv4 亚家族的成员（Raible and Brand 2001；Firnberg and Neubüser 2002；Brent and Tabin 2004；Willardsen et al. 2014）。受体酪氨酸激酶途径的终点是对各种基因表达的调节，包括但不局限于一些参与细胞周期的基因。

4.6.4　成纤维细胞生长因子和 JAK-STAT 途径

成纤维细胞生长因子也能激活 JAK-STAT 级联反应。这个途径对血细胞分化、肢生长和产乳过程中

酪蛋白基因的激活有极其重要的作用（图 4.27；Briscoe et al. 1994；Groner and Gouilleux 1995）。这个级联反应起始于一个旁分泌因子结合一个跨膜蛋白受体的细胞外结构域，该受体的细胞内结构域与 **JAK 激酶**（**JA**K，**Ja**nus **k**inase）相结合。旁分泌因子与受体的结合激活 JAK 激酶，然后，被激活的 JAK 激酶磷酸化一些**信号转导及转录激活蛋白**（**s**ignal **t**ransducer and **a**ctivator of **t**ranscription，**STAT**）家族的转录因子（Ihle 1996，2001）。被磷酸化的 STAT 是一个能进入细胞核并与它的一些增强子结合的转录因子。

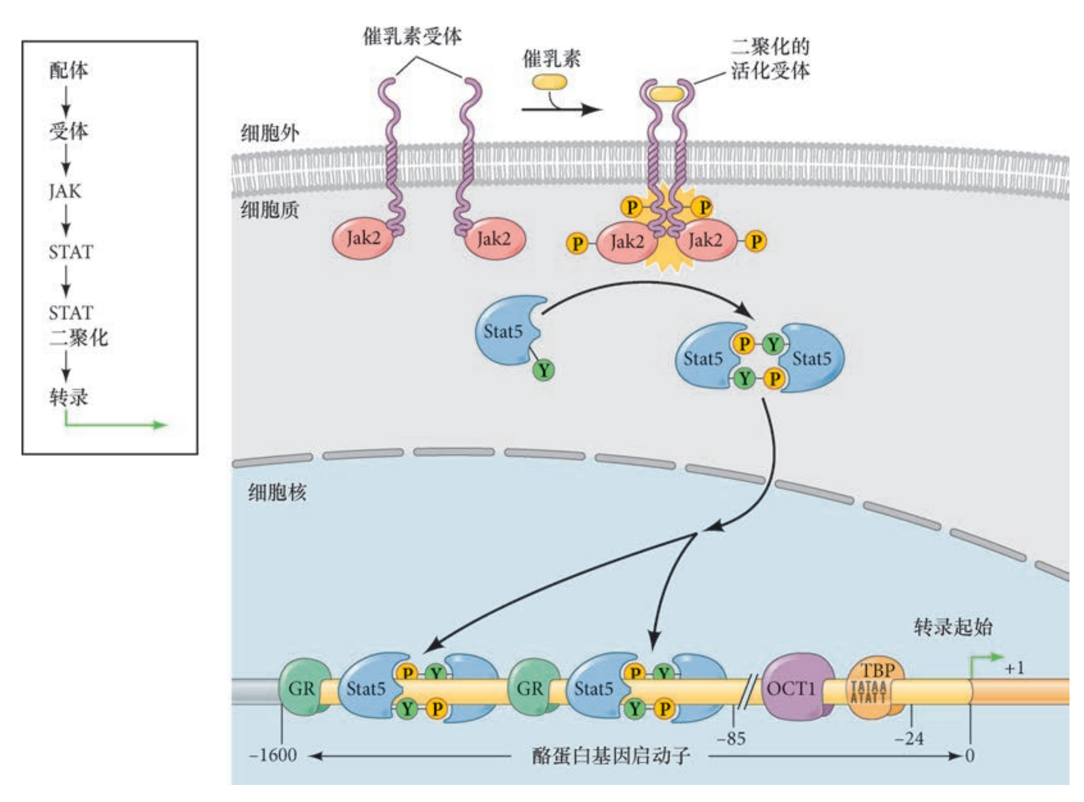


图 4.27 JAK-STAT 途径：酪蛋白的基因的激活。酪蛋白的基因在乳腺发育的末期（催乳期）被激活，这个激活信号是垂体前叶分泌的催乳素。它使乳腺管上皮细胞的催乳素受体形成二聚体。一个特殊的 JAK 激酶（Jak2）被“挂”到这些受体的细胞质结构域。当受体结合催乳素并形成二聚体后，JAK 激酶互相磷酸化并使二聚体的受体发生磷酸化。活化的受体使一个特殊的 STAT 蛋白上的一个酪氨酸残基（Y）发生磷酸化，在这里发挥作用的是 Stat5。磷酸化的 Stat5 形成二聚体后进入细胞核，结合特定区域的 DNA。与其他转录因子（这些因子可能早就等在那里）一起，Stat5 激活酪蛋白基因的转录。GR 是糖皮质激素受体，OCT1 是一个通用转录因子，TBP（TATA 结合蛋白）是锚定 RNA 聚合酶 II（见第 2 章）和结合 RNA 聚合酶 II 的主要启动子结合蛋白。左图是这个途径的简化版（详见 Groner and Gouilleux 1995）。JAK：JAK 激酶；STAT：信号转导及转录激活蛋白；Jak2：Jak2 激酶；Stat5：信号转导及转录激活蛋白 -5。

在人类，JAK-STAT 途径对调节胎儿的骨生长起关键作用。过早激活 STAT 途径的突变与一些严重形式的侏儒有关，如致死性骨发育不全，其中，肋骨和肢骨的生长板不能增殖。短肢的新生儿因为肋骨不能支持呼吸而死亡。致死性骨发育不全的遗传病因是编码成纤维细胞生长因子受体 -3（FGFR3）的基因突变（图 4.28；Rousseau et al. 1994；Shiang et al. 1994）。*FGFR3* 表达在长骨生长板的软骨前体细胞（软骨细胞）。在正常情况下，FgfR3 蛋白（一个受体酪氨酸激酶）被一个成纤维细胞生长因子激活后传递一个信号，使软骨细胞停止分裂并开始分化成软骨。这个信号由 Stat1 蛋白介导，它被活化的 FgfR3 磷酸化后转运到细胞核。在核内，Stat1 激活一个细胞周期抑制物（p21 蛋白）的基因表达（Su et al. 1997）。*FGFR3* 基因上的一个功能获得突变引起致死性侏儒。突变的受体处在一种组成性的激活状态，也就是说，它不需要一个 FGF 信号的激活（Deng et al. 1996；Webster and Donoghue 1996）。软骨细胞在形成后不久就停止增殖以至于骨不能生长。其他一些在较低程度上过早激活 *FGFR3* 的突变导致软骨发育不全性（短肢）侏儒（Legeai-Mallet et al. 2004）。

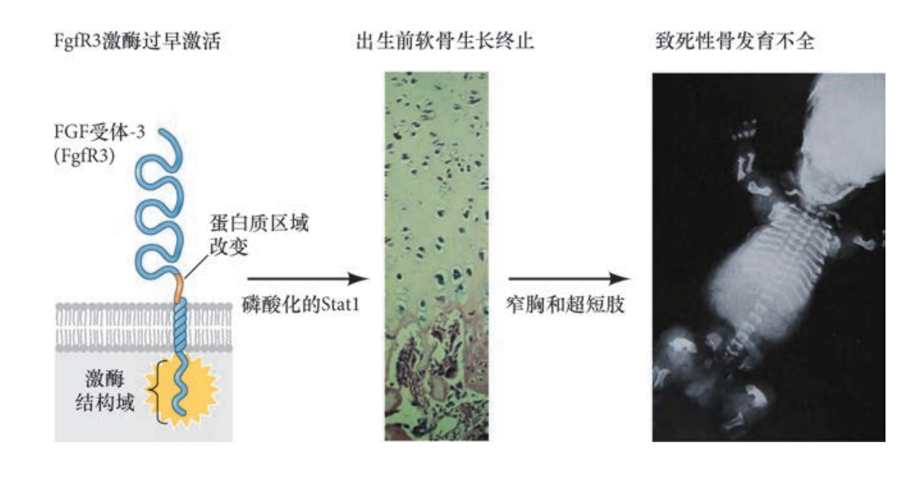


图 4.28　编码 FgfR3 的基因携带的一个突变导致 STAT 途径过早地组成性激活和产生磷酸化的 Stat1 蛋白。这个转录因子激活一些基因，使软骨细胞的分裂过早终止。这样的后果是致死性骨发育不全，是一种骨不能生长的状态。因为胸廓不能扩张，无法支持正常呼吸而导致新生儿死亡（参考 Gilbert-Barness and Opitz 1996）。

科学家讲座 4.3　Francesca Mariani 博士讲解 FGF 信号转导在肢芽外向生长中的作用。

网络话题 4.2　**成纤维细胞生长因子受体的突变**　人的成纤维细胞生长因子受体的突变与很多骨骼畸形综合征相关，包括头、肋或肢软骨不能生长或分化的一些综合征。

4.6.5　Hedgehog 家族

旁分泌因子 **Hedgehog 家族**（**Hedgehog family**）成员是一些多功能的信号蛋白，在胚胎中通过一些信号转导途径诱导产生特定的细胞类型，以及通过其他方式影响细胞导向。最初的 *hedgehog* 基因是在果蝇中发现的，并且是以它们的突变体表型来命名的：缺失 *hedgehog* 功能的突变导致幼体的外皮（毛状结构）被尖的齿体覆盖，所以很像一个刺猬（hedgehog）。脊椎动物至少有三个果蝇 *hedgehog* 基因的同源物：*sonic hedgehog*（*shh*）、*desert hedgehog*（*dhh*）、*indian hedgehog*（*ihh*）。“沙漠刺猬”蛋白表达在睾丸的支持细胞，携带 *dhh* 无效等位基因的纯合体小鼠显示精子形成的缺陷。“印度刺猬”蛋白表达在肠和软骨，对出生后的骨生长很重要（Bitgood and McMahon 1995；Bitgood et al. 1996）。“索尼克刺猬”[6] 蛋白在脊椎动物中的功能最为广泛。除了其他重要功能以外，Sonic hedgehog 还能保证运动神经元只在神经管的腹侧部分形成（见第 13 章）、使每个体节的一部分形成椎骨（见第 17 章）、使鸡的羽毛只在适当的位置形成（见图 4.19），以及使我们的小指总是位于最后的位置（见第 19 章）。Hedgehog 信号之所以能调节如此多的发育事件，是因为它们以形态发生素的方式起作用；Hedgehog 蛋白从一个细胞源头分泌出来，呈现一个空间的梯度，以不同的阈值浓度诱导差异性的基因表达，产生各种细胞特征。

Hedgehog 蛋白的分泌　以不同方式加工和组装的 Hedgehog 蛋白能显著地改变分泌量和形成的梯度（图 4.29）。通过裂解它的羧基端并与胆固醇和棕榈酸成分结合，Hedgehog 蛋白被加工并以单体或多体的形式分泌，也能被包装成脂蛋白聚集物，甚至能在外泌泡中被转运到细胞外。

在小鼠的肢芽，有证据证明如果 Shh 缺少胆固醇修饰，它会快速扩散并消失在周围的空间（Li et al. 2006）。这些脂性的修饰对建立稳定的 Hedgehog 浓度梯度和途径激活同样也很重要。通过这些多样的蛋白加工和转运机制，就可以在几百个微米（在小鼠的肢中大约是 30 个细胞的直径）的范围内建立稳定的 Hedgehog 浓度梯度。

[6] 这个名称确是根据《世嘉创世纪》的人物而命名的。脊椎动物的一些 *Hedgehog* 基因是用与果蝇基因序列相似的探针来筛选脊椎动物基因库（鸡、大鼠、斑马鱼）而被发现的。Riddle 及其同事（1993）在脊椎动物中发现了三个果蝇 *hedgehog* 基因的同源物。其中两个是以目前存在的两种刺猬的名字而命名，第三个是根据动画角色的名字而命名。另外两个只在斑马鱼中发现的基因最初被命名为 *echidna hedgehog*（埃凯德娜刺猬，很可能是来自《刺猬索尼克》卡通中的朋友）和 *tiggywinkle hedgehog*（来自毕翠克丝·波特虚构的刺猬），但它们现在分别被称为 *ihh-b* 和 *shh-b*。

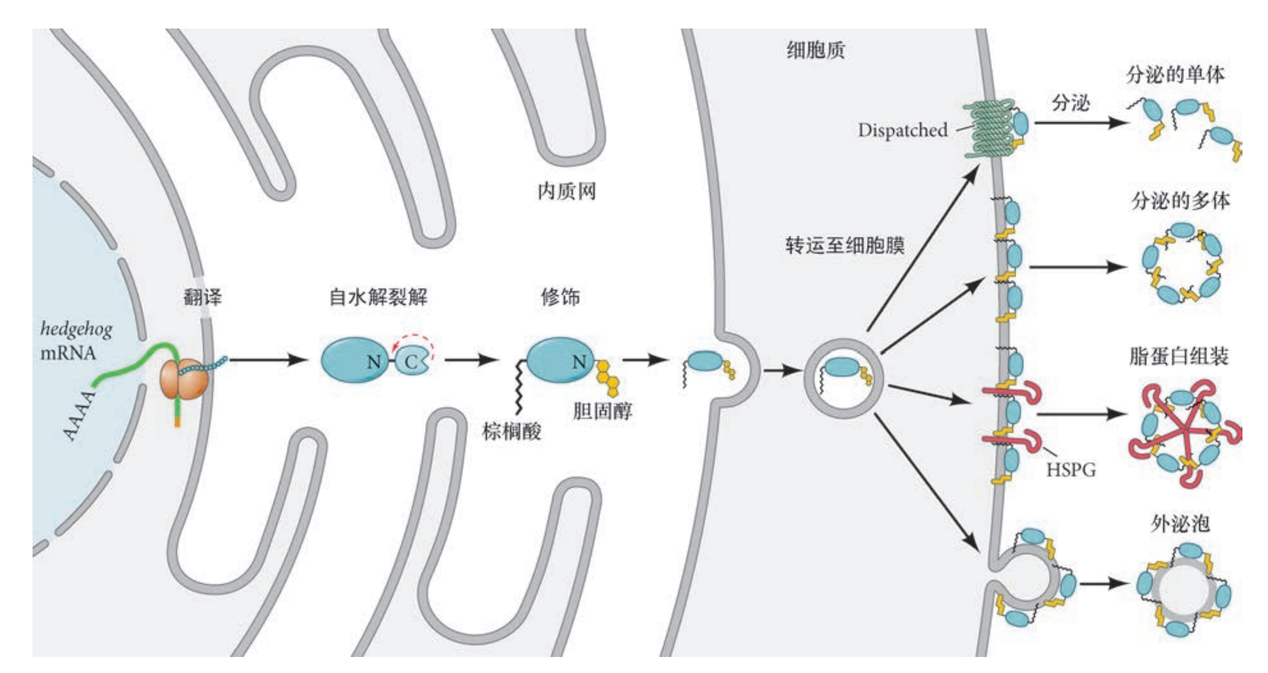


图 4.29　Hedgehog 的加工和分泌。在内质网中 Hedgehog 的翻译产生一个具有自水解活性的 Hedgehog 蛋白，能将羧基端（C）裂解下来，使标示蛋白分泌的信号序列暴露出来。游离的羧基片段不参与信号传递，通常被降解，而氨基端部分（N）变成活化的分泌性 Hedgehog 蛋白。Hedgehog 的分泌需要在蛋白质上添加胆固醇和棕榈酸（Briscoe and Thérond 2013）。胆固醇部分与一个称为 Dispatched 的跨膜蛋白相作用使 Hedgehog 以单体的形式分泌和扩散；胆固醇和棕榈酸对多体 Hedgehog 蛋白的组装是必需的。另外，Hedgehog 与一类膜联结的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（HSPG）相作用，促进 Hedgehog 分子以脂蛋白聚集物的形式聚集和分泌（Breitling 2007；Guerrero and Chiang 2007）。以类似方式聚集的 Hedgehog 也可通过外泌泡的形式转运到细胞外。

Hedgehog 信号途径　Hedgehog 蛋白的胆固醇部分不仅对调节细胞外转运有重要作用；它对 Hedgehog 在应答细胞膜受体上的锚定也很关键（Grover et al. 2011）。与 Hedgehog 蛋白结合的受体是 Patched，这是一个大的 12 次跨膜蛋白（**图 4.30**）。但是，Patched 并不是一个信号转导物。相反地，Patched 蛋白抑制另一个跨膜蛋白受体的功能，这个蛋白质称为 Smoothened。在 Hedgehog 没有结合 Patched 的情况下，Smoothened 不具活性并被降解，而且，一个转录因子——果蝇的 Cubitus interruptus（Ci）或者脊椎动物的同源物之一（Gli1、Gli2 和 Gli3），被绑定在应答细胞的微管。尽管如此，Ci/Gli 也会被裂解以至于这个蛋白质的一个片段进入细胞核后发挥一个转录抑制因子的作用。这个裂解反应受多种蛋白质的催化，包括 Fused、Suppressor of fused（SuFu）及蛋白激酶 -A（PKA）。在有 Hedgehog 时，应答细胞表达几个额外的辅受体（Ihog/Cdo、Boi/Boc、Gas1），共同促进 Hedgehog 与 Smoothened 的互作。被 Hedgehog 结合后，Patched 蛋白的构象发生改变，不再抑制 Smoothened，并且进入胞吞途径被降解。Smoothened 将 Ci/Gli 从微管释放出来（很可能是通过磷酸化），这样，全长的 Ci/Gli 蛋白就能进入细胞核，作为转录激活物激活那些被裂解形式的 Ci/Gli 所抑制的基因（见图 4.30；Yao and Chuang 2015；Briscoe and Thérond 2013；Lum and Beachy 2004）。

Hedgehog 信号途径也有独立于 Gli 转录因子的其他靶点，这些蛋白质参与肌动蛋白细胞骨架的快速重塑，导致应答细胞的方向性迁移。例如，Charron 的实验室证明，在神经管上寻径的轴突能感知源于神经管底板的 Sonic Hedgehog 梯度，这个梯度能吸引连合神经元转向中线并交叉到神经系统的另一个半球（Yam et al. 2009；Sloan et al. 2015）。我们将在第 15 章详述轴突导向的机制。

Hedgehog 信号途径在脊椎动物肢的图式形成、神经分化和寻径、视网膜和胰腺的发育、颅面的形态发生，以及很多其他过程中都有极其重要的作用（**图 4.31A**；McMahon et al. 2003）。纯合的 *Sonic hedgehog* 小鼠突变体呈现严重的肢和面部异常。面部的中线区域严重缩小，在额的中央形成一个眼睛，

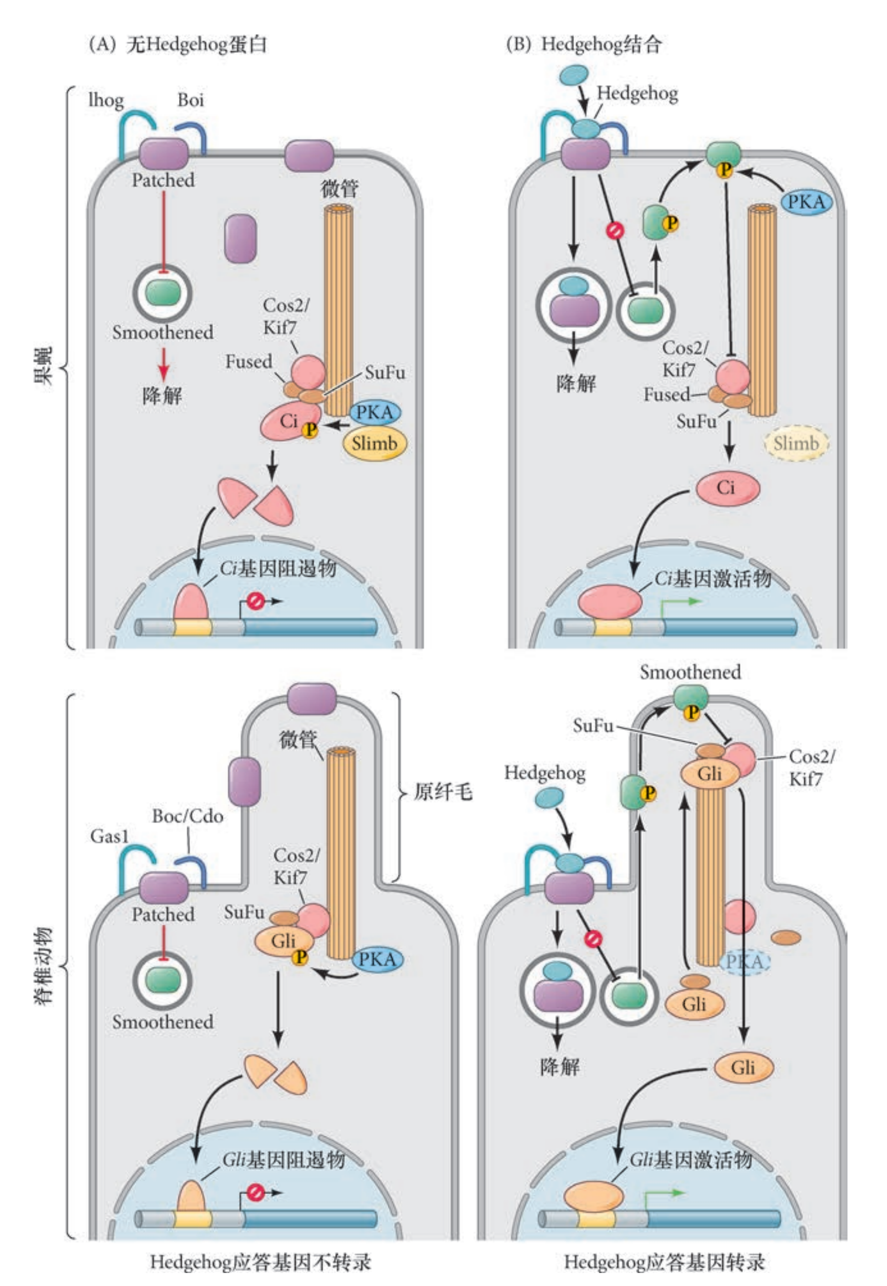


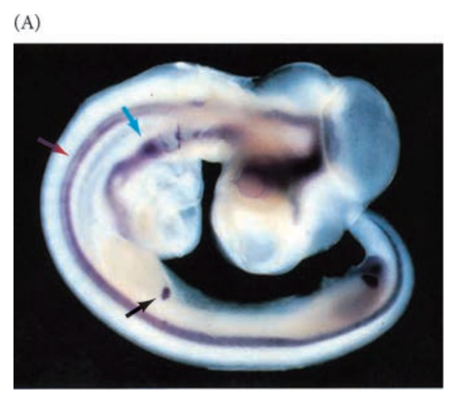
图 4.30　Hedgehog 信号转导途径。在细胞膜上的 Patched 蛋白是 Smoothened 蛋白的抑制物。(A) Hedgehog 没有与 Patched 结合时，Patched 抑制 Smoothened，在果蝇中，Ci 蛋白被 Cos2 和 Fused 这两个蛋白质绑定在微管。这种联系使蛋白激酶 -A（PKA）和 Slimb 这两个蛋白质将 Ci 裂解成一个转录抑制因子，阻断特定基因的转录。(B) Patched 与 Hedgehog 结合时，它的构象改变使它失去对 Smoothened 蛋白的抑制。然后 Smoothened 将 Ci 从微管上释放下来，抑制 PKA 和 Slimb 这两个蛋白质的裂解作用。Ci 蛋白进入细胞核，对一些特定基因发挥转录激活物的作用。在脊椎动物（下图），Ci 的同源物是几个 *Gli* 基因，在 Hedgehog 与 Patched 结合或不结合时，它们也分别行使类似的转录激活物或转录抑制物的功能。另外，在脊椎动物，Smoothened 需要进入原纤毛才能将 Gli 蛋白加工成有活性的形式；Hedgehog 与 Patched 的结合促使 Smoothened 转运到原纤毛。最后，多个辅受体（如 Gas1 和 Boc）也能促进 Hedgehog 信号。Lhog：Lhog 辅受体；Boi：Boi 辅受体；Patched：Patched 受体；Smoothened：Smoothened 蛋白；Cos2/Kif7，Cos2/Kif7 蛋白；Fused：Fused 蛋白；SuFu：SuFu 蛋白；PKA：蛋白激酶 -A；Slimb：Slimb 蛋白；Ci：Ci 蛋白；Gas1：Gas1 辅受体；Boc/Cdo：Boc/Cdo 辅受体；Hedgehog：Hedgehog 配体（参考 Johnson and Scott 1998；Briscoe and Thérond 2013；Yao and Chuang 2015）。

受古希腊史诗中独眼巨人的启发，这种状态被称为独眼（**图 4.31B**；Chiang et al. 1996）。一些人的独眼综合征是因为编码 Sonic hedgehog 的基因或编码胆固醇合成酶的基因出现突变而导致的（Kelley et al. 1996；Roessler et al. 1996；Opitz and Furtado 2013）。而且，某些化学物质能干扰 Hedgehog 信号途径，从而诱导独眼的产生（Beachy et al. 1997；Cooper et al. 1998）。已知的在脊椎动物中能导致独眼产生的两种致畸因子[7]是蒜藜芦碱（jervine）和环巴胺（cyclopamine）。它们都是存在于加州百合科植物（*Veratrum californicum*；泛称加州百合）中的生物碱，能直接结合 Smoothened 并抑制其功能（见图 4.31B；Keeler and Binns 1968）。

在发育后期，Sonic Hedgehog 对鸡胚胎的羽毛形成和哺乳动物的毛发形成都有关键作用，它的调节异常会在人类导致皮肤癌（Harris et al. 2002；Michino et al. 2003）。尽管使 Hedgehog 信号途径失活的突变导致畸形的出现，激活这个途径的突变能异位地产生促分裂的作用并导致肿瘤发生。如果 Patched 在体细胞中发生突变而不能抑制 Smoothened，这会在表皮的基底细胞层产生肿瘤（基底细胞癌）。遗传性的

[7] 致畸因子是一种外源化合物，能导致胚胎发育的畸形；见第 1 章和第 24 章。

(A)



(B)



袖珍指南

斑马鱼发育的视频显示酒精如何在胚胎中诱导独眼的发生。

图 4.31 （A）原位杂交显示 Sonic hedgehog 表达在第 3 天的鸡胚胎神经系统（红色箭）、肠（蓝色箭）、肢芽（黑色箭）。（B）一个独眼羊的头部，这只羊出生自怀孕期间吃过加州百合科植物的母羊。大脑半球的合并产生了一个独立的、位于中央的眼及脑垂体的缺失。这种植物产生的生物碱（蒜藜芦碱）抑制胆固醇的合成，而胆固醇对 Hedgehog 的生成与接收都是必要的（A 图由 C. Tabin 提供；B 图由 L. James 和美国农业部有毒植物实验室提供）。

patched 基因突变导致基底细胞痣综合征，这是一种罕见的常染色体显性遗传状态，呈现发育异常（并指、肋和面部异常）和多种恶性肿瘤等特征（Hahn et al. 1996；Johnson et al. 1996）。有意思的是，vismodegib 是一个与环巴胺类似并且能抑制 Smoothened 功能的化合物，目前在临床上已被用于治疗基底细胞癌（Dreno et al. 2014；Erdem et al. 2015）。针对这个药你认为应该给予孕妇什么样的告诫？

科学家讲座 4.4 James Briscoe 博士回答关于 Hedgehog 信号途径在神经管发育过程中的作用的一些问题。

科学家讲座 4.5 Marc Tessier-Lavigne 博士讲述 Hedgehog 作为一个非经典的轴突导向信号的作用。

(A) (B)

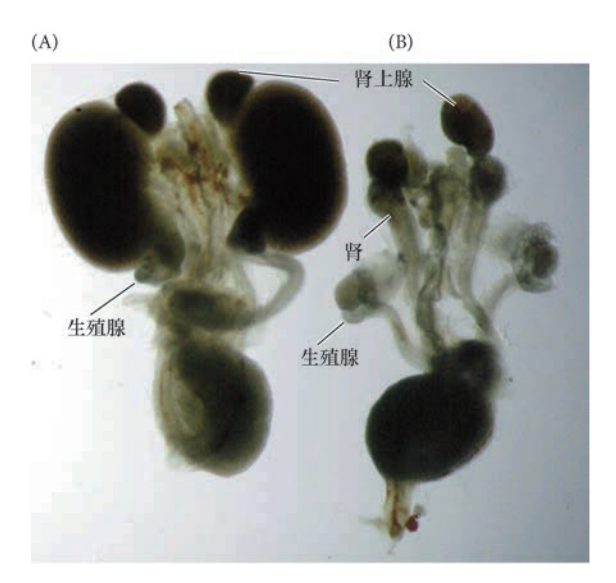


图 4.32 Wnt4 对肾发育和雌性性别决定是必要的。（A）一个野生型新生雌性小鼠的泌尿生殖原基。（B）靶向敲除 *Wnt4* 后，新生雌性小鼠的泌尿生殖原基显示肾发育缺陷。另外，卵巢开始合成睾酮并被一个改变的雄性管系统包围（由 J. Perasaari 和 S. Vainio 提供）。

4.6.6 Wnt 家族

Wnt 蛋白是一些旁分泌因子，构成一个大家族的富含半胱氨酸的糖蛋白，在脊椎动物中至少有 11 个保守的成员（Nusse and Varmus 2012）；在人类竟然有 19 个不同的 *Wnt* 基因[8]！ Wnt 家族最初是在 1980 年 Christiane Nüsslein-Volhard 和 Eric Wieschaus 带动的果蝇正向遗传筛选过程中被发现的，并被命名为 *wingless*，因为在这个基因座上的突变导致翅缺失。Wnt 这个名称是果蝇体节极性基因 *wingless* 与脊椎动物的同源物之一 *integrated* 合并而来的。在不同物种中如此之多的 *Wnt* 基因说明它们参与众多发育事件的重要性。例如，Wnt 蛋白对建立昆虫和脊椎动物肢的极性、促进干细胞的增殖、沿各种组织的轴向调节细胞命运、影响哺乳动物泌尿生殖系统的发育（图 4.32）、引导间充质细胞的迁移及轴突的寻径都有关键的作用。Wnt 信号途径如何介导像细胞分裂、细胞命运、细胞导向等如此多样的过程？

[8] 关于所有 Wnt 蛋白和 Wnt 信号转导成分的一个全面性总结可以查询 http://web.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/ 网站。

Wnt 分泌　与打造有功能的 Hedgehog 蛋白类似，Wnt 蛋白在内质网中合成并通过添加脂类（棕榈酸和棕榈油酸）被修饰。这些修饰受一个膜联结的乙酰转移酶 Porcupine（箭猪）催化（你对这个酶的名称是怎么想的？）[9]。有意思的是，*Porcupine* 基因的功能缺失后导致 Wnt 蛋白的分泌及在内质网的组装减弱（van den Heuvel et al. 1993；Kadowaki et al. 1996），说明脂类修饰对 Wnt 的细胞膜转运很重要。一旦被转运到膜上，Wnt 能以相同于 Hedgehog 蛋白的机制被分泌：自由扩散、通过外泌体转运，或者被组装成脂蛋白颗粒（Tang et al. 2012；Saito-Diaz et al. 2013；Solis et al. 2013）。

在分泌时，Wnt 蛋白在细胞外基质上与磷脂酰肌醇蛋白聚糖（glypican；一类硫酸乙酰肝素蛋白聚糖）结合，而细胞外基质能限制 Wnt 蛋白的扩散，使 Wnt 在它产生的位置有更多的积累。当 Wnt 结合应答细胞上的 Frizzled 受体后，应答细胞开始分泌 Notum，这是一个与磷脂酰肌醇蛋白聚糖结合的水解酶，能将与 Wnt 蛋白连接的脂类通过脱酰作用或去脂作用裂解下来（Kakugawa et al. 2015）。这个过程使 Wnt 信号减弱，因为脂类对 Wnt 与 Frizzled 的结合是必需的；这个过程也建立了一个负反馈机制，阻止过度的 Wnt 信号转导。Frizzled 受体具有一个独特的适合与脂质化 Wnt 互作的疏水性裂缝，这样的结合构象在 Notum 蛋白的结构中也很相似（图 4.33A，B）。在果蝇的翅成虫盘中高表达 Notum 能降低 Wnt/Wg 靶基因的表达；

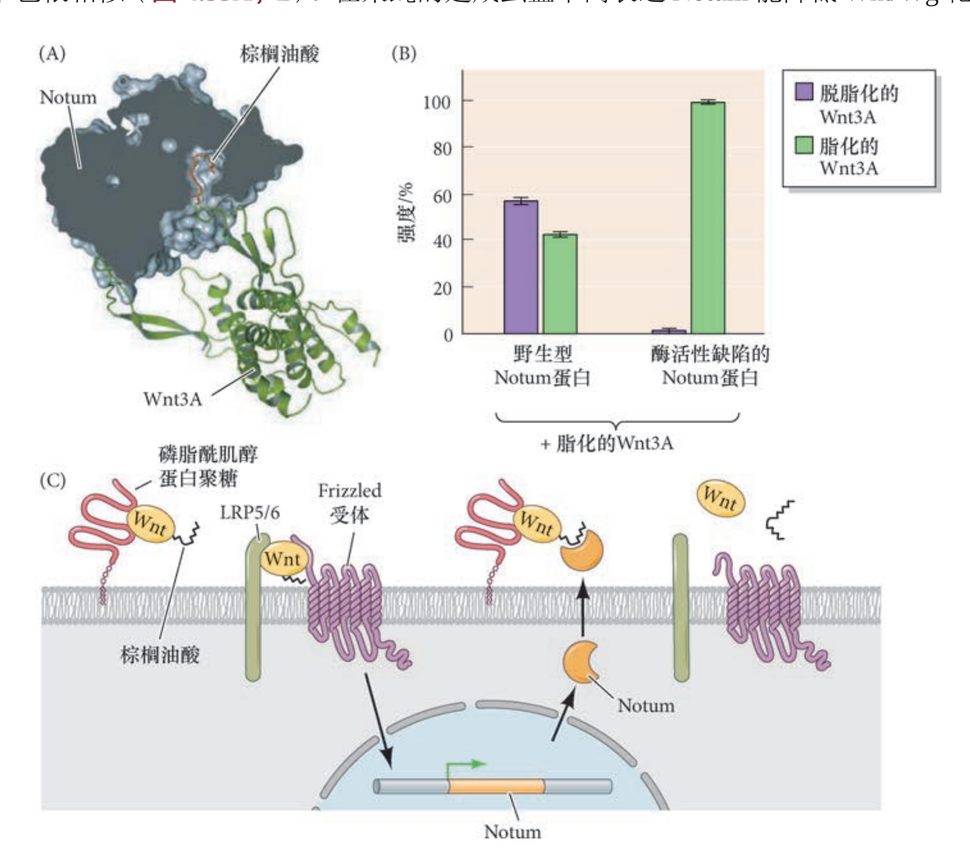


图 4.33　Notum 拮抗 Wnt。(A) Notum（灰色）与 Wnt3A（绿色）结合时的结构。在这个剖视图上可观察到 Notum 的活性位点，显示 Notum 与 Wnt3A 的棕榈油酸部分（橙色）精确结合。(B) 与 Wnt 结合后，Notum 的水解酶活性将 Wnt3A 的脂类部分裂解下来，使 Wnt3A 不能与 Frizzled 受体结合。显示在这里的数据说明了水解酶功能对 Wnt3A 去脂作用的必要性。与野生型 Notum 相比，缺失酶活性的 Notum 不能将 Wnt3A 的脂基团去除（去脂化；紫色柱子）。(C) Wnt 在细胞外的调节模型。脂化的 Wnt 既能结合 Frizzled 受体也能结合磷脂酰肌醇蛋白聚糖（硫酸乙酰肝素蛋白聚糖）。激活的 Wnt 信号导致 Notum 表达的上调，Notum 分泌到细胞外后与磷脂酰肌醇蛋白聚糖互作，在这里，Notum 结合并裂解 Wnt 蛋白的棕榈油酸部分。以这种方式，Wnt 信号引起一个由 Notum 介导的负反馈机制。Notum：Notum 蛋白；Wnt3A：Wnt3A 蛋白；LRP5/6：低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6（Wnt 辅受体）（A 图由 Matthias Zebisch 制作，数据来自 Kakugawa et al. 2015；由 Yvonne Jones 和 Jean-Paul Vincent 提供）。

[9] 在果蝇，*Porcupine* 基因的突变导致分节缺陷，在幼体中产生像箭猪刺那样的齿体（Perrimon et al. 1989）。你想起来 Hedgehog 的命名了吗？Porcupine 特异地使 Wnt 蛋白发生棕榈酰化，而 Hedgehog 被一个称为 Hhat 的酶棕榈酰化。

相反，*Notum* 的克隆性缺失导致 Wnt 靶基因表达的扩张。有意思的是，*Notum* 基因的表达在应答 Wnt 的细胞中呈现上调，这样就建立了一个负反馈机制（图 4.33C；Kakugawa et al. 2015；Nusse 2015）。Notum 并不是唯一能抑制 Wnt 与受体结合的蛋白质，也有很多其他的拮抗剂，包括分泌型的 Frizzled 相关蛋白（Sfrp）、Wnt 抑制因子（Wif）及 Dickkopf（Dkk）家族的成员（Niehrs 2006）。综上所述，Wnt 的分泌、磷脂酰肌醇蛋白聚糖介导的限制、分泌型配体抑制物，以及负反馈机制等多种方式帮助建立了稳定的 Wnt 配体梯度和应答途径。

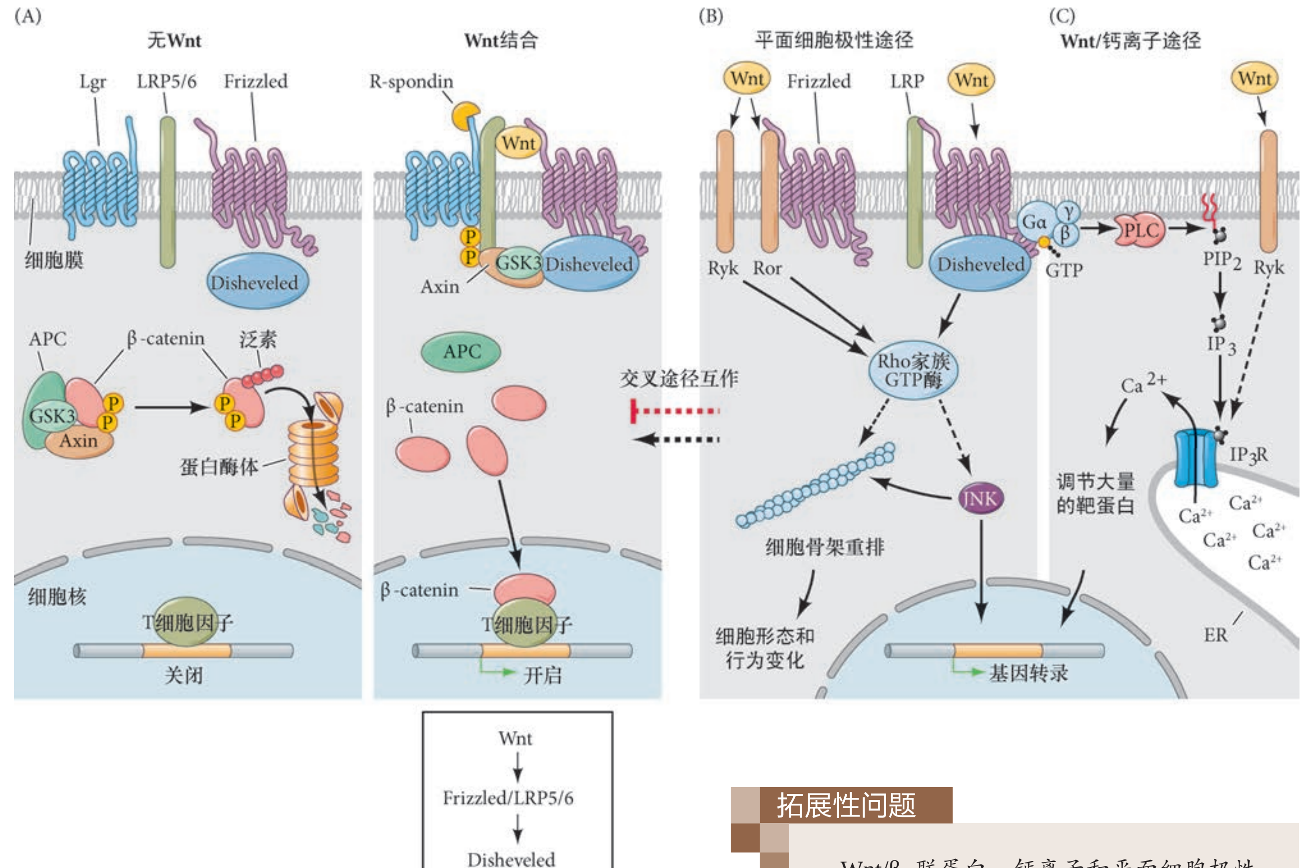
经典 Wnt 信号途径（β- 联蛋白依赖性） 首个被描述的 Wnt 信号途径是经典的"Wnt/β- 联蛋白"（Wnt/β-catenin）途径，这个途径通过一系列的信号转导事件激活 β- 联蛋白转录因子并调节特定基因的表达（图 4.34A；Chien et al. 2009；Clevers and Nusse 2012；Nusse 2012；Saito-Diaz et al. 2013）。在 Wnt/β- 联蛋白信号转导过程中，脂化的 Wnt 家族成员与一对跨膜受体蛋白相作用：一个 Frizzled 家族的蛋白质和一个大的跨膜蛋白，称为低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6（LRP-5/6；Logan and Nusse 2004；MacDonald et al. 2009）。在没有 Wnt 的状态下，转录辅助因子 β- 联蛋白被一个蛋白降解复合物持续降解；这个降解复合物由多个蛋白质组成，包括 Axin 和 APC，以及**糖原合成酶激酶 -3（glycogen synthase kinase 3，GSK3）**。GSK3 使 β- 联蛋白发生磷酸化，从而被蛋白酶体识别和降解。结果是一些 Wnt 应答基因被 LEF/TCF 转录因子抑制，LEF/TCF 转录因子至少与另外两个蛋白质形成功能复合物，其中包括一个组蛋白脱乙酰酶。

当 Wnt 与一个细胞接触时，它们将 Frizzled 与低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6 带至一起，形成一个多体复合物。这使低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6 能结合 Axin 和 GSK3，并使 Frizzled 结合 Dishevelled，所有这些事件都发生在细胞内。Dishevelled 将 Axin 和糖原合成酶激酶维持在细胞膜附近，因此阻止 β- 联蛋白被 GSK3 磷酸化。这个过程使 β- 联蛋白得以稳定，积累后进入细胞核（见图 4.34A）。在细胞核内，β- 联蛋白结合 LEF/TCF 转录因子，并将这些原本行使转录抑制功能的因子转变成转录激活因子，因此激活一些 Wnt 的应答基因（Cadigan and Nusse 1997；Niehrs 2012）。

很明显，这是一个过度简化的模型，因为不同的细胞以不同的方式激活这个途径（见 McEwen and Peifer 2001；Clevers and Nusse 2012；Nusse 2012；Saito-Diaz et al. 2013）。但是，在 Wnt 和 Hedgehog 信号途径中已经很清楚的一个重要原则就是，途径的激活总是伴随着对一个抑制物的抑制。

非经典 Wnt 信号途径（β- 联蛋白非依赖性） 除了将信号传递至细胞核，Wnt 蛋白也能导致细胞质的变化，影响细胞功能、形态和行为。这些另类或非经典的途径可以被分成两种："平面细胞极性"（Wnt/PCP）途径和"Wnt/ 钙离子"（Wnt/Calcium）途径（图 4.34B，C）。平面细胞极性（或 PCP）途径调节肌动蛋白和微管细胞骨架，因此影响细胞的形态，并且经常引起细胞迁移所必需的双极突出行为。一些 Wnt（如 Wnt5A 和 Wnt11）结合一个不同的受体（一个 Frizzled 辅以一个 Ror 受体而不是 Lrp5/6）后激活 Dishevelled，这个 Ror 受体复合物引起 Dishevelled 磷酸化，使它能与 Rho 家族 GTP 酶相作用（Grumolato et al. 2010；Green et al. 2014）。Rho 家族 GTP 酶被通俗地看成是细胞的"建筑大师"，因为它们能激活一系列的其他蛋白质（一些酶和细胞骨架结合蛋白），使得细胞骨架成分重塑以改变细胞的形态和运动。最值得注意的是，平面细胞极性这一 Wnt 信号途径在一个组织内沿同一空间平面调节细胞行为，因此被称为平面极性。通过对细胞骨架的调控，Wnt/PCP 信号能使细胞分裂定向在同一平面（而不是形成上部和下部的组织划分），以及使细胞在同一平面上运动（Shulman et al. 1998；Winter et al. 2001；Ciruna et al. 2006；Witte et al. 2010；Sepich et al. 2011；Ho et al. 2012；Habib et al. 2013）。在脊椎动物，这种细胞分裂和迁移的调节对原肠胚形成和神经胚形成期间胚层的建立及前 - 后轴的延伸都有很重要的作用。

顾名思义，Wnt/ 钙离子信号途径引发细胞内储存的钙离子的释放，而被释放的钙离子能作为一个重要的第二信使调节很多下游靶点的功能。在这个途径中，Wnt 与一个受体蛋白结合（可能是 Ryk，单独或与 Frizzled 一起），然后激活磷脂酶 -C（PLC），而 PLC 的酶活性释放一个复合物，这个复合物转而从滑面内质网中将钙离子释放出来（见图 4.34C）。被释放的钙离子能激活一些酶、转录因子、翻译因子。在斑马鱼中，缺失 Ryk 阻碍 Wnt 诱导的钙离子释放并引起细胞定向运动的缺陷（Lin et al. 2010；Green et al.



Wnt
↓
Frizzled/LRP5/6
↓
Disheveled
⊥
GSK3
⊥
β-catenin
↓
转录

图 4.34　Wnt 信号转导途径。(A) 经典或 β- 联蛋白依赖的 Wnt 信号途径。Wnt 蛋白结合 Frizzled 家族成员的受体，它通常也同时结合 LRP5/6 和 Lgr。在没有 Wnt 的状态下，β- 联蛋白与一个蛋白复合物相作用，这个复合物中的蛋白质包括 GSK3、APC 和 Axin，它们使 Wnt 在蛋白酶体中降解。Wnt 信号的下游转录效应物是 β- 联蛋白转录因子。在有 Wnt 的状态下，Frizzled 能激活 Dishevelled，使它变成 GSK3 的抑制物。有活性的 GSK3 将会阻止 β- 联蛋白与 APC 蛋白的分离。所以，通过抑制 GSK3，Wnt 信号就能使 β- 联蛋白脱离 APC 蛋白，然后 β- 联蛋白与它的辅助因子 (LEF 或 TCF) 结合，变成一个有活性的转录因子。(B，C) 非经典 (非 β- 联蛋白依赖的) Wnt 信号转导途径能调节细胞形态、细胞分裂和细胞运动。(B) 一些 Wnt 蛋白同样也通过 Frizzled 激活 Dishevelled，但却导致 Rho 家族的小 G 蛋白酶的激活，如 Rac 和 RhoA。这些小 G 蛋白酶协调细胞骨架排列的变化，但也能通过 Jun 激酶 (JNK) 调节基因的表达。(C) 在第三种途径中，一些 Wnt 蛋白激活 Frizzled 和 Ryk 受体，然后导致钙离子的释放，这能引起钙离子依赖的基因表达。Lgr：富含亮氨酸重复基序的 G 蛋白偶联受体；LRP5/6：低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6；Frizzled：Frizzled 受体；R-spondin：经典 wnt 信号途径的分泌性激动剂；β-catenin：β- 联蛋白；GSK3：糖原合成酶激酶 -3；Ryk：Ryk 受体；Ror：Ror 受体；JNK：Jun 激酶；PIP_2：磷脂酰肌醇 4,5 双磷酸；PLC：磷脂酶 -C；IP_3：肌醇三磷酸；IP_3R：肌醇三磷酸受体；ER：内质网 (参考 MacDonald et al. 2009)。

拓展性问题

Wnt/β- 联蛋白、钙离子和平面细胞极性这三个途径有什么不同？毫无疑问，了解 Wnt 信号途径的最大挑战是弄清楚不同的途径如何相互作用。我们也许需要对信号转导有一个更全面的理解，不仅能预示经典与非经典 Wnt 信号转导途径之间的互作，也能预测所有旁分泌因子介导的信号途径之间的互作 (Wnt、Hedgehog、成纤维细胞生长因子、骨形态发生蛋白等)。你是怎么想的？你将如何试图去研究一些重要信号途径之间的互作？

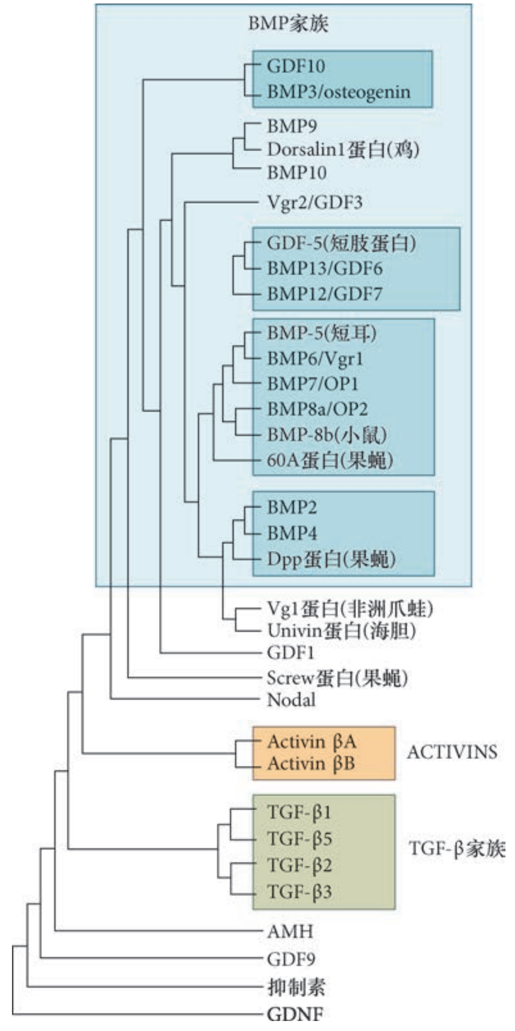


图 4.35 转化生长因子 -β 超家族成员之间的关系。GDF10：生长分化因子 -10；BMP3/osteogenin：骨形态发生蛋白 -3/ 成骨蛋白；BMP9：骨形态发生蛋白 -9；BMP10：骨形态发生蛋白 -10；Vgr2/GDF3：Vg 相关蛋白 -2/ 生长分化因子 -3；BMP13/GDF6：骨形态发生蛋白 -13/ 生长分化因子 -6；BMP12/GDF7：骨形态发生蛋白 -12/ 生长分化因子 -7；BMP6/Vgr1：骨形态发生蛋白 -6/Vg 相关蛋白 -1；BMP7/OP1：骨形态发生蛋白 -7/ 骨蛋白 -1；BMP8a/OP2：骨形态发生蛋白 -8a/ 骨蛋白 -2；BMP2：骨形态发生蛋白 -2；BMP4：骨形态发生蛋白 -4；GDF1：生长分化因子 -1；Nodal：Nodal 蛋白；ACTIVINS：激活蛋白；Activin βA：激活蛋白 -βA；Activin βB：激活蛋白 -βB；TGF-β1：转化生长因子 -β1；TGF-β5：转化生长因子 -β5；TGF-β2：转化生长因子 -β2；TGF-β3：转化生长因子 -β3；AMH：抗苗勒氏管激素；GDF9：生长分化因子 -9；GDNF：胶质细胞源性神经营养因子（参考 Hogan 1996）。

2014)。有证据显示 Ryk 能被裂解并转运到细胞核，这种状态在哺乳动物的神经发育和线虫的阴门发育中起一定作用（Lyu et al. 2008；Poh et al. 2014)。

尽管这三个 Wnt 信号途径（β- 联蛋白、平面细胞极性、钙离子）具有不同的基本功能，越来越多的证据显示它们之间有重要的交叉互作（van Amerongen and Nusse 2009；Thrasivoulou et al. 2013)。例如，在脊椎动物原肠胚形成和肢发育过程中，Wnt5 介导的钙离子信号途径能拮抗 β- 联蛋白信号途径（Ishitani et al. 2003；Topol et al. 2003；Westfall et al. 2003)。

4.6.7 转化生长因子 -β 超家族

转化生长因子 -β 超家族（TGF-β superfamily）[10] 有 30 多个结构相关的成员，它们都调节发育过程中一些最重要的互作事件（图 4.35)。TGF-β 超家族包括 TGF-β 家族、Nodal 和激活蛋白家族、骨形态发生蛋白、Vg1 家族，以及其他一些蛋白质，如胶质细胞源性神经营养因子（GDNF；对肾和肠神经元的分化是必要的）和抗苗勒氏管激素（AMH；一个参与哺乳动物性别决定的旁分泌因子)。下面我们将介绍三个在发育过程中普遍使用的家族：TGF-β、BMP、Nodal/activin。

- **转化生长因子 -β 家族（transforming growth factor-β family，TGF-β family）** 中的 TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、TGF-β5 对调节细胞之间的细胞外基质形成和调节细胞分裂（正调节和负调节）有重要的作用。TGF-β1 能增加上皮细胞产生的细胞外基质（通过刺激胶原蛋白和纤连蛋白的合成，以及抑制细胞外基质的降解)。一些 TGF-β 蛋白可能对调节上皮分支形成肾管、肺管、唾液腺管的位置和时间有关键作用（Daniel 1989；Hardman et al. 1994；Ritvos et al. 1995)。很难将 TGF-β 家族中单个成员的作用区分出来，因为这个家族的成员看似具有类似的功能，并且在共同表达时能够补偿其他成员的缺失。
- **骨形态发生蛋白家族（BMP family）** 的成员可以与 TGF-β 家族的成员区分出来，因为它们的成熟多肽具有 7 个（而不是 9 个）保守的半胱氨酸。由于最初发现这些蛋白质具有诱导骨形成的能力，所有称之为**骨形态发生蛋白（bone**

[10] TGF 代表 Transforming Growth Factor（转化生长因子)。“超家族”这个名称通常用于不同种类的分子组成一个家族的情况。一个超家族的成员都具有类似的结构，但它们并不像一个家族内的分子之间那么类似。

morphogenetic protein)。但后来发现调节骨形成只是这些蛋白质的众多功能之一；BMP 是一些极其多功能的蛋白质[11]。它们参与调节细胞分裂、细胞凋亡（程序性细胞死亡）、细胞迁移、细胞分化（Hogan 1996）。这个家族包括一些蛋白质，如 BMP4（在某些情况下调节骨形成，在其他情况下特化表皮，在另外的情况下引起细胞增殖或细胞死亡）和 BMP7（对神经管的极性、肾发育和精子形成有重要作用）。果蝇的 BMP4 同源物对附属器官的形成至关重要，这包括肢、翅、外生殖器、触角。的确，15 个这种附属器官结构的畸形使得这个果蝇的同源物被命名为 Decapentaplegic（DPP）。实际上（并且很奇怪），BMP1 根本不是骨形态发生蛋白家族的成员；相反地，它是一个蛋白酶。一般认为 BMP 蛋白从产生它们的细胞扩散后发挥功能（Ohkawara et al. 2002）。其中一些直接结合 BMP 的抑制物，如头蛋白和 Chordin，能阻止 BMP 与受体的相互作用。在讨论原肠胚的背 - 腹轴特化时，我们将更多地介绍这个形态发生机制。

- **Nodal 和激活蛋白（activin）** 对特化不同区域的中胚层及区分脊椎动物体轴的左右侧都有非常重要的作用。两侧对称动物的左右不对称在很大程度上受从右到左的一个 Nodal 梯度影响。在脊椎动物，这个梯度好像是由动纤毛的摆动而建立的，这种纤毛的摆动能促进 Nodal 以梯度流的形式穿过中线（Babu and Roy 2013；Molina et al. 2013；Blum et al. 2014；Su 2014）。

SMAD 途径　TGF-β 超家族成员激活 **Smad 家族（Smad family）** 的一些转录因子成员（Heldin et al. 1997；Shi and Massagué 2003）。TGF-β 配体结合 II 型 TGF-β 受体，进而使 II 型受体结合 I 型 TGF-β 受体。这两个受体紧密接触后，II 型受体使 I 型受体上的一个丝氨酸或苏氨酸发生磷酸化，因此将 I 型受体激活。然后，被激活的 I 型受体使 Smad[12] 蛋白发生磷酸化（**图 4.36A**）。Smad1 和 Smad5 受 BMP 家族的成员激活，而与激活蛋白、Nodal 和 TGF-β 家族成员结合的受体使 Smad2 和 Smad3 发生磷酸化。这些被磷酸化

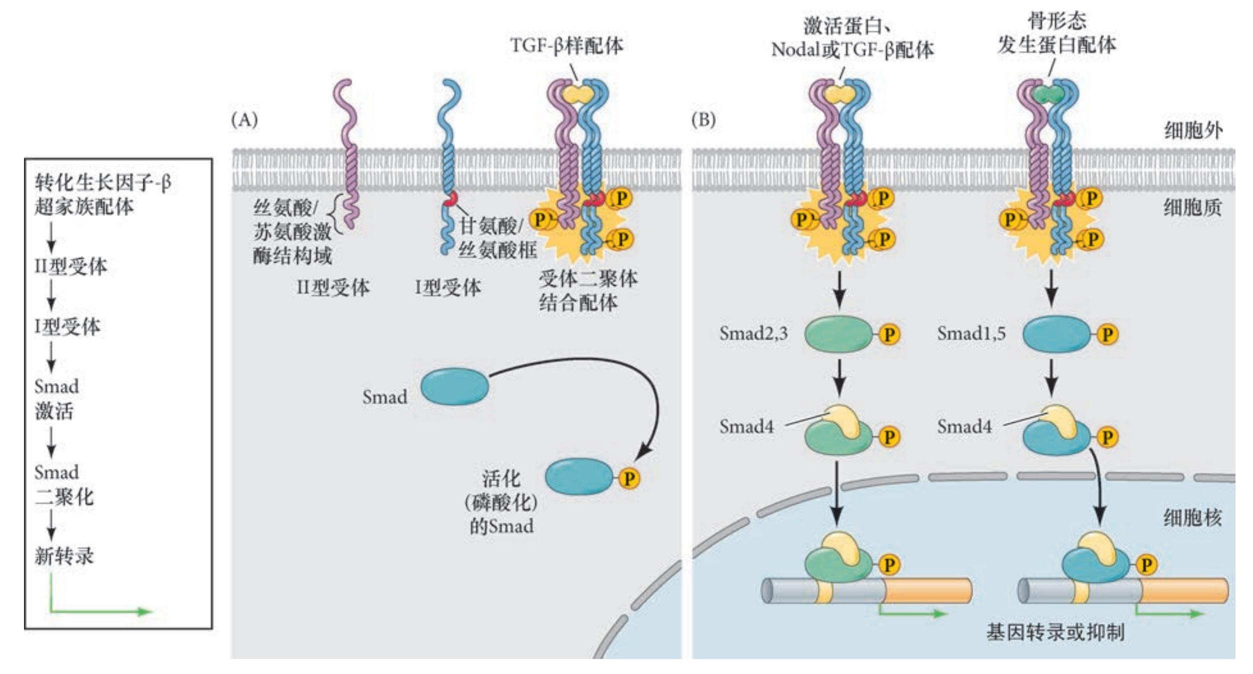


图 4.36　转化生长因子 -β 超家族的配体激活 Smad 途径。（A）配体与 I 型和 II 型受体结合后形成激活复合物，使 II 型受体磷酸化 I 型受体上特定的丝氨酸或苏氨酸。然后，磷酸化的 I 型受体使一些 Smad 蛋白发生磷酸化。（B）结合 TGF-β 家族蛋白或激活蛋白家族成员的受体使 Smad2 和 Smad3 发生磷酸化。结合 BMP 家族蛋白的受体使 Smad1 和 Smad5 磷酸化。这些 Smad 与 Smad4 结合后形成活化的转录因子。左图显示这个信号途径的简化版。

---

[11] 人类看似不需要一个巨大的基因组的很多原因之一就是参与我们躯体构建和发育的基因产物，即蛋白质，通常能行使很多功能。很多在成体中的蛋白质（如血红蛋白、角蛋白、胰岛素）的确只有一种功能，这样就产生了一个错误的结论，认为这是普遍现象。

[12] Smad 蛋白的命名是将这个家族中最早被发现的成员的名称合并而来的：线虫的 SMA 蛋白和果蝇的 MAD 蛋白。

的 Smad 结合 Smad4，形成入核的转录因子复合物（图 4.36B）。

4.6.8 其他旁分泌因子

尽管大多数旁分泌因子都属于上述四个家族之一的成员（FGF、Hedgehog、Wnt、TGF-β 超家族），另一些旁分泌因子只有少数或没有相关物。表皮生长因子、肝细胞生长因子、神经营养因子及干细胞因子都不属于上述四个家族，但它们都在发育过程中起重要的作用。另外，还有很多只参与血细胞发育的旁分泌因子：红细胞生成素、一些细胞因子和一些白细胞介素。另一类旁分泌因子最初是因为它们具有细胞（轴突）导向的功能而被发现，包括神经轴突导向因子、Semaphorin 和 Slit 家族。这些典型的导向分子（如神经轴突导向因子）现也被证明能调节基因表达。我们将在本书中讨论所有这些旁分泌因子与发育的关系。

4.7 旁分泌信号转导的细胞生物学

我们一直在讨论细胞膜动态和细胞信号转导，这使人感觉好像它们属于独立的体系，然而，它们的功能是密切相关的。旁分泌因子能重排细胞表面，而细胞表面对调节旁分泌因子的合成、流动和功能有关键作用。旁分泌信号的作用经常能改变细胞膜的成分。

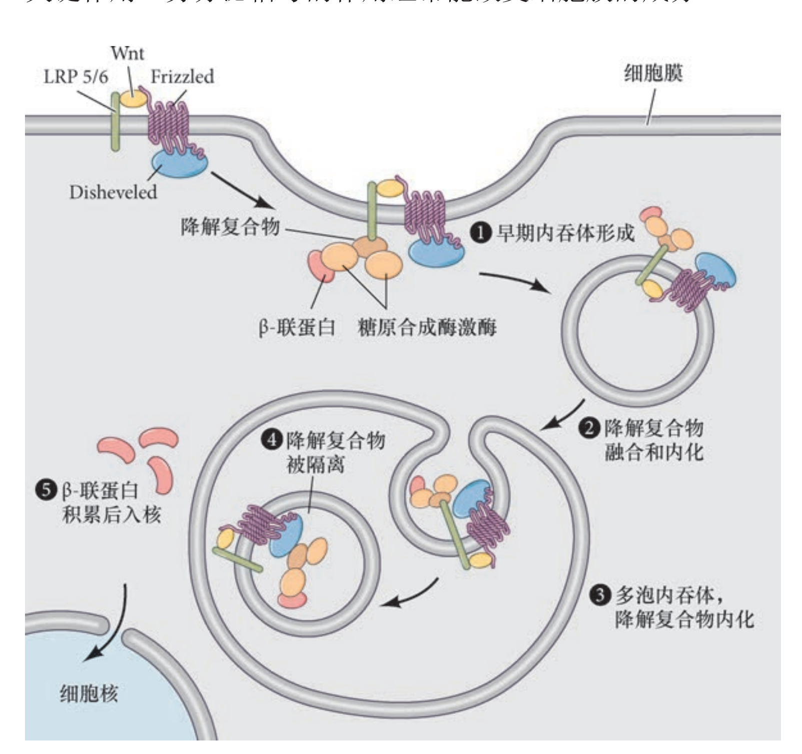


图 4.37 Wnt 信号途径：β- 联蛋白降解复合物被组装成内吞体。使 β- 联蛋白与降解酶分离的一个机制是将复合物组装成内吞体的膜泡。Wnt 结合 Frizzled 后，Frizzled 便能结合降解复合物；整个复合物（包括受体和配体）被内化，这使 β- 联蛋白得以积累而不是被降解。Wnt：Wnt 配体；LRP5/6：低密度脂蛋白相关蛋白 -5/6；Frizzled：Frizzled 受体；Dishevelled：Dishevelled 蛋白（参考 Taelman et al. 2010）。

内吞体的内化 一个细胞表面所具有的受体类型和数量决定了它潜在的应答能力。胞吞作用是清除细胞表面受体的一个机制。最新的研究显示，配体与受体复合物通过称为**内吞体**（**endosome**）的膜泡而发生内化是旁分泌信号传递的普遍机制。Wnt 与受体结合后，β- 联蛋白的降解复合物也与受体结合，整个复合物（包括受体和配体）便在内吞体中被内化（图 4.37；Taelman et al. 2010；Niehrs 2012）。这个过程将复合物清除，使其降解，结果是使 β- 联蛋白得以稳定。信号转导复合物的内化看似对 β- 联蛋白的积累极为关键，一些协同这个胞吞作用的蛋白质（如 R-spondin；见图 4.34）能进一步增强 Wnt 信号途径（Ohkawara et al. 2011）。类似地，Hedgehog 与 Patched 的复合物、FGF 与 FGFR 复合物都在内吞体中被内化并被靶向降解，这个过程对正常的肢发育是必需的（Briscoe and Thérond 2013；Handschuh et al. 2014；Hsia et al. 2015）。

旁分泌因子的扩散 旁分泌因子不是在细胞外的空隙里自由流动。相反地，它们能被细胞膜和组织的细胞外基质结合。在某些情况下，这种结合能阻碍旁分泌形态发生素的传播，甚至能将它们靶向到降解途径（Capurro et al. 2008；Schwank et al. 2011）。例如，Wnt 蛋白如果没有其他蛋白质的协助就很难远

距离扩散。因此，当邻近细胞分泌一些结合 Wnt 的蛋白质并阻止它们过早地结合靶组织时，Wnt 因子的作用范围就会延伸（图 4.38；Mulligan et al. 2012）。类似地，我们在前面已经提到，细胞外基质中的**硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（heparan sulfate proteoglycan，HSPG）**经常能调节 FGF、BMP 和 Wnt 蛋白的稳定、接收、扩散速度及浓度梯度（Akiyama et al. 2008；Yan and Lin 2009；Berendsen et al. 2011；Christian 2011；Müller and Schier 2011；Nahmad and Lander 2011）。

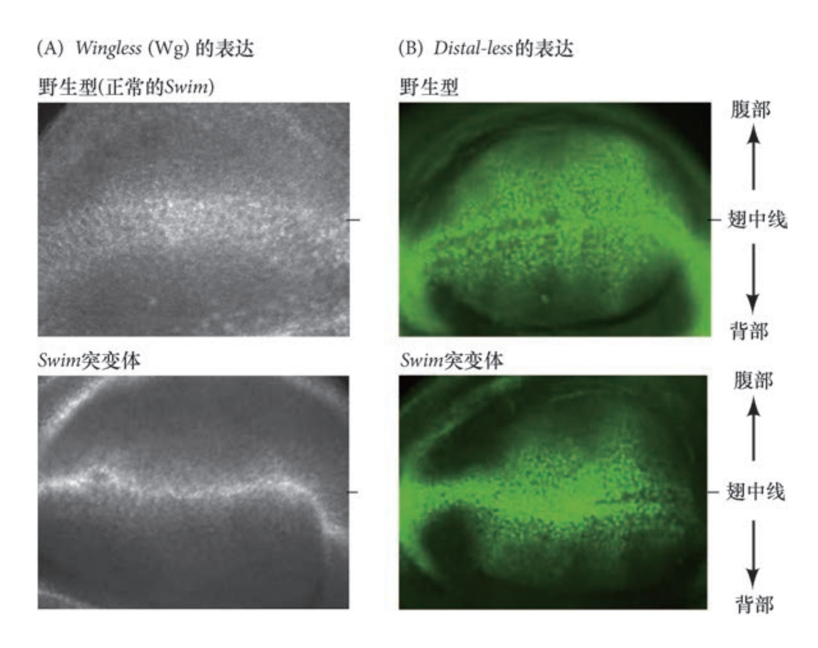


图 4.38　Wnt 蛋白的扩散受其他蛋白的影响。(A) Wingless (Wg；一个 Wnt 旁分泌因子）在野生型果蝇（上图）发育中的翅上扩散被 Swim 增强，这个蛋白质表达在翅细胞并能稳定 Wg。在 *Swim* 突变体中（下图），Wg 不能扩散，只聚集在分泌细胞周围的一个窄的条带。(B) 类似地，在野生型果蝇中（上图），Wingless 在较大范围内激活 *Distal-less* 基因（绿色）。但在 *Swim* 突变体中，*Distal-less* 的表达范围只局限在表达 Wg 的细胞周围的一个窄的条带（来自 Mulligan et al. 2012）。

FGF 的分泌是 HSPG 影响旁分泌因子扩散的一个最好的例子。细胞将 FGF 分泌到细胞外基质，然后 FGF 与各种 HSPG 相互作用，这些 HSPG 既调节 FGF 的扩散，也影响 FGF 与受体的结合（Balasubramanian and Zhang 2015）。与所有的蛋白聚糖一样，硫酸乙酰肝素蛋白聚糖具有不同长度和不同类型的糖链，它们与 FGF 作用的形式差异性地影响 FGF 的梯度。准确地说，Fgf8 的形态发生素梯度被认为是通过一个“源 - 汇”（source-sink）模型（也称为“分泌 - 扩散 - 清除”机制；Yu et al. 2009）而建立起来的。在这个模型中，分泌 Fgf8 的细胞是形态发生素的源头，接收 Fgf8 的细胞通过结合、内化或蛋白降解机制为清除 Fgf8 提供汇集（Balasubramanian and Zhang 2015）。Michael Brand 的实验室在斑马鱼原肠胚中试验了这个模型，他们将 Fgf8 与 GFP 融合后注射到一组细胞，然后用荧光相关光谱在离注射细胞不同距离的细胞外基质中对 Fgf8 进行量化（图 4.39A，B）。很明显地，研究人员能观察到 Fgf8-GFP 梯度在不同条件下的差异（图 4.39C）：配体自由扩散的距离最远；沿 HSPG 纤维的“方向性扩散”促进了 Fgf8 在多个细胞距离上的移动；Fgf8 在 HSPG 基质上的“限制性成簇”明显地妨碍了扩散；胞吞作用将 Fgf8 与 FGFR 复合物内化并在接收细胞的溶酶体中降解（Yu et al. 2009；Bökel and Brand 2013）。因此，靶组织并非处在一个被动的状态，它可以促进扩散、延迟扩散，或降解旁分泌因子。

纤毛作为信号接收中心　在很多情况下，旁分泌因子并不是均匀地被细胞膜接收；正相反，一些受体在膜上呈不对称聚集。例如，在脊椎动物中，Hedgehog 蛋白的接收发生在原纤毛上，这是一个由微管组成的局部细胞膜延伸（Huangfu et al. 2003；Goetz and Anderson 2010）。不能将原纤毛与气管壁或原肠胚原结中的动纤毛混淆。原纤毛比动纤毛要短得多，在发现它们与很多人类疾病的直接关系之前，原纤毛一直没有引起人们的注意。事实上，一些“纤毛疾病”，如巴尔得 - 别德尔综合征（Bardet-Biedl syndrome），被怀疑是纤毛对 Hedgehog 信号途径的间接影响而引起的（Nachury 2014）。在没有被刺激的细胞中，Patched 蛋白（Hedgehog 的受体；见图 4.30）定位在原纤毛的膜上，而 Smoothened 蛋白定位在接近纤毛的膜上或是作为内吞体的一部分被靶向降解。Patched 通过阻止 Smoothened 接近原纤毛而抑制它的功能（Milenkovic et al. 2009；Wang et al. 2009）。但是，当 Hedgehog 与 Patched 结合时，Smoothened 就

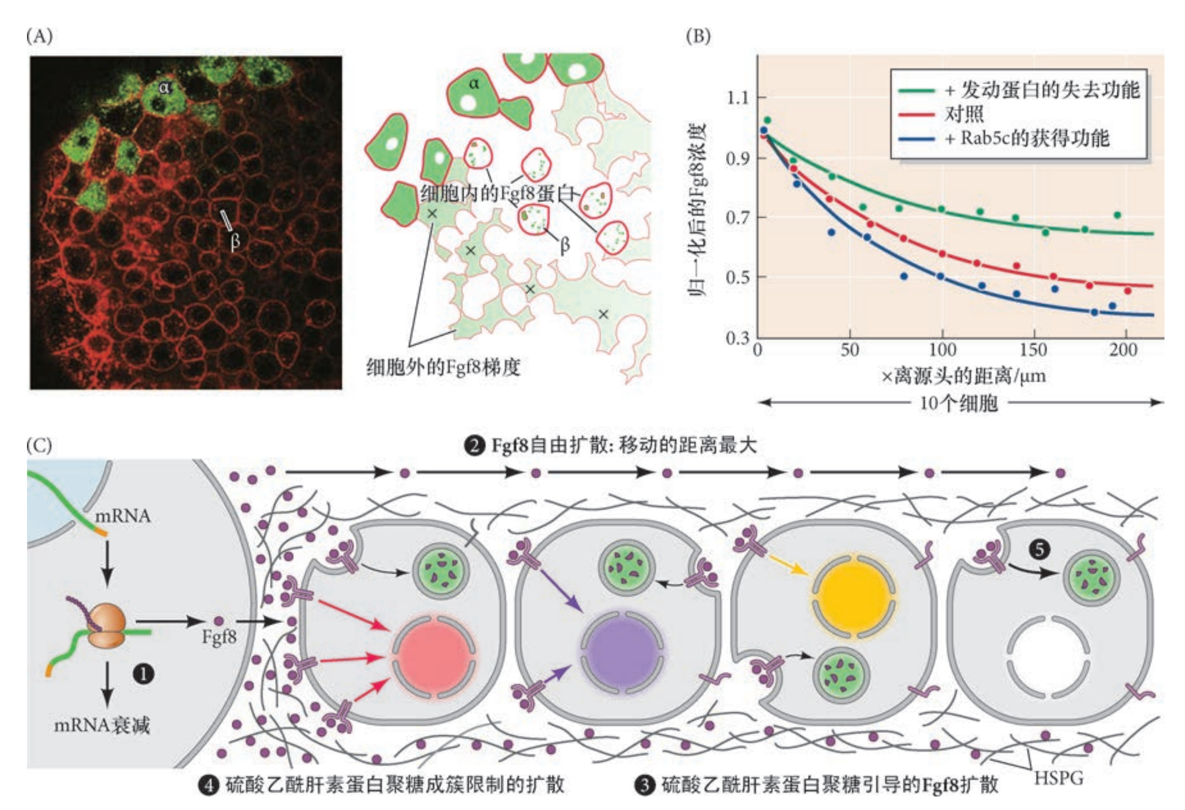


图 4.39 成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）梯度。（A）在斑马鱼囊胚中注射编码 Fgf8-GFP（绿色）和膜 RFP- 糖基磷脂酰肌醇（GPI；红色）的 DNA，然后分别观察 Fgf8 的表达和细胞膜。这个激光共聚焦图片是注射后的一个原肠胚，显示 Fgf8 被合成并被分泌出 GFP 标记的细胞（绿色）。右侧的图示代表在激光共聚焦图片中观察的一些细胞及 Fgf8 的表达（比较 α 和 β 标识符）。可以看到 Fgf8 在细胞外基质上形成梯度，以及在接收细胞中被内化。（B）对（A）图中不同位置（图示中的“X”）的 Fgf8 进行量化。改变胞吞作用能产生可预期的 Fgf8 分泌范围的变化。用 GTP 酶发动蛋白的显性失活突变体（LOF，失去功能）抑制胞吞作用导致 Fgf8 梯度在远距离的缓慢下降（绿色曲线）。通过高表达内吞体蛋白 Rab5c（GOF，获得功能）促进胞吞作用能产生陡而短的 Fgf8 梯度（蓝色曲线）。（C）影响 Fgf8 梯度五个主要机制。① *fgf8* 转录和 mRNA 的降解速度差异能影响细胞最终分泌 Fgf8 蛋白的数量。一旦分泌出去后，Fgf8 能自由扩散②或沿 HSPG 纤维以方向性扩散的方式迅速传送③。④相反，HSPG 密集的区域能限制和约束扩散。⑤ Fgf8 与 FGFR 复合物也能被胞吞作用内化并被溶酶体降解。这些不同的机制共同产生图中显示的 Fgf8 梯度，以及接触不同浓度的 Fgf8 信号的细胞的差异性应答（不同颜色的细胞核）。HSPG：硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（A 图由 Michael Brand 提供；B 图来自 Yu et al. 2009；C 图参考 Bökel and Brand 2013；Balasubramanian and Zhang 2015）。

能在纤毛的细胞膜上与 Patched 接触，并在这个位置阻止蛋白激酶 -A 和 SuFu 产生抑制形式的 Gli 转录因子（图 4.40）。这些纤毛中的微管为引擎蛋白提供支架，以转运 Patched、Smoothened 和活化的 Gli 蛋白，影响纤毛形成或它们的转运机制的一些突变都能阻止 Hedgehog 信号的转导（Mukhopadhyay and Rohatgi 2014）。

4.7.1 局部的膜突出作为信号源

我们已经讨论了分泌性生长因子作为细胞之间短距离和长距离信号传递的作用。然而，是不是也存在一种不需要分泌就能将信号传递的机制？在这样的情况下，产生信号的细胞自身进行物理性接触并传递信号。在这里，我们介绍一些新兴的观点：两种动态的膜延伸如何促进细胞之间的信息传递，甚至能产生长距离的梯度。

片足 在被囊动物，一个前心脏始祖细胞通过不对称分裂产生心脏祖细胞。尽管两个子细胞都接触到 Fgf9 诱导信号，只有最小的那个细胞应答这个信号，产生心脏祖细胞谱系。在不对称分裂过程中，始祖细胞的腹前侧形成**片足**（**lamellipodium**）的局部突出（Cooley et al. 2011）。这些伪足富含肌动蛋白（不

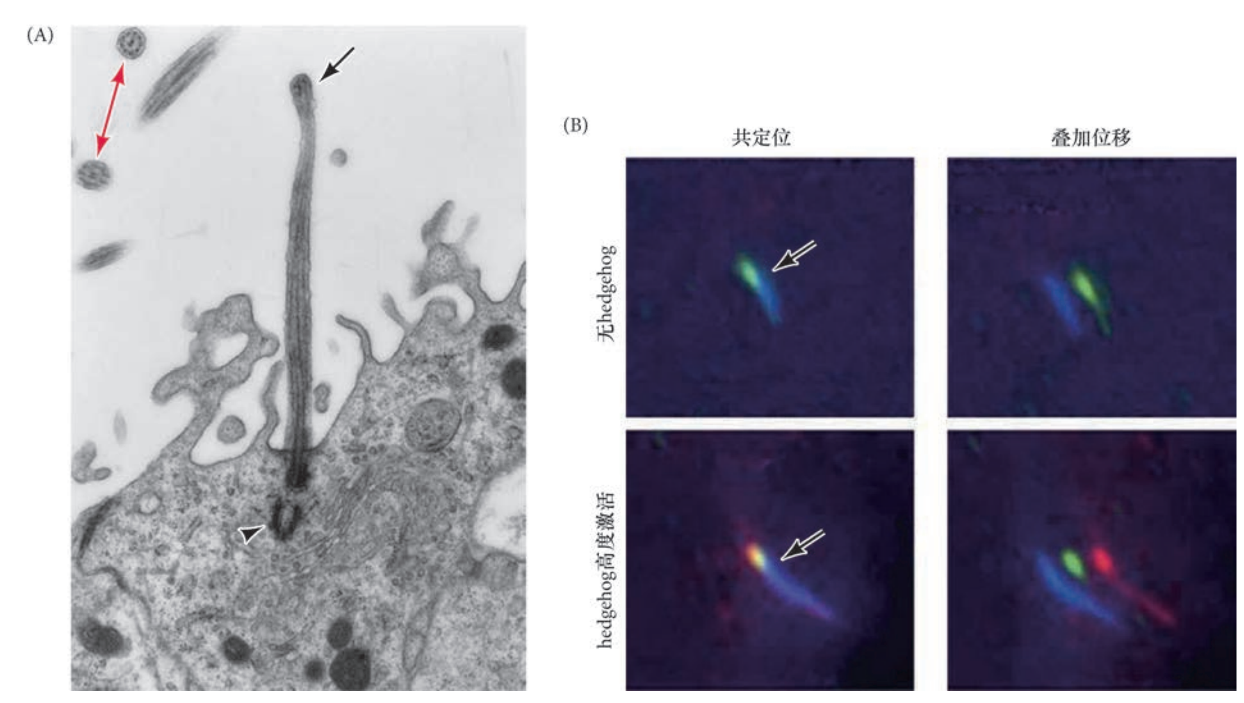


图 4.40　接收 Hedgehog 的原纤毛。(A) 纵剖面透射电镜图，显示成体哺乳动物脑神经干细胞中一个“B 型细胞”（见第 5 章）的原纤毛（黑色箭所示）。可以观察到原纤毛基部的中心粒（箭头）；原纤毛中的微管形成一个 8+0 的结构（其他类型的纤毛，如动纤毛，通常形成一个 9+2 的排列，如左上角横切面的红色箭所示）。(B) Hedgehog 信号途径的激活需要将 Smoothened 转运到原纤毛。图中显示一个体外培养的成纤维细胞的原纤毛（箭所示；乙酰化微管蛋白的免疫荧光染色，蓝色）。用药物 SAG 高度激活 Hedgehog 信号途径时，纤毛蛋白 Evc（绿色）与 Smoothened（红色）共定位。比较左图中的共定位与右图的重叠。右图的重叠有位移，以显示每种标记。Evc 与 Smo 的复合物在原纤毛中的活化引起 Gli 信号的完全激活 (A 图来自 Alvarez-Bulla et al. 1998；B 图来自 Caparrós-Martín et al. 2013)。

像富含微管的纤毛），并在这个区域引起 Rho 家族 GTP 酶 (Cdc42) 的极性定位。腹侧表皮的细胞外基质可能促使这种定位。同时，FGF 受体的活性开始集中在片足。当细胞分裂时，小的细胞继承了这些局部激活的 FGF 受体，引起形成心脏的差异性基因表达（图 4.41）。

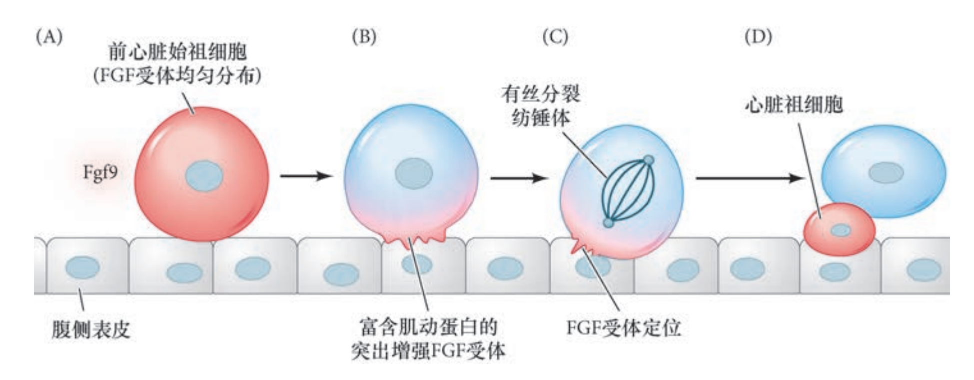


图 4.41　被囊动物心脏祖细胞谱系差异性特化的模型。(A) 前心脏始祖细胞均匀接触 Fgf9，使始祖细胞膜所有部分的 FGF 受体被均匀占位。(B) 细胞腹前侧膜上富含肌动蛋白的伪足与 FGF 受体的激活相关联。(C) 当祖细胞进入有丝分裂时，腹前侧细胞膜上侵袭性的伪足将 FGF 受体的激活限制在这个区域。(D) 在不对称分裂后，FGF 激活的促分裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 信号途径被局限在腹侧的子细胞，导致心脏祖细胞中特定基因的表达。Fgf9：成纤维细胞生长因子 -9（参考 Cooley et al. 2011）。

丝足样细胞突触桥　如果我们认为一些通过细胞外基质扩散的旁分泌因子实际上是在突触样的连接上从一个细胞转运到另一个细胞，你会怎么想？目前已经有很多证据支持**细胞突触桥** (**cytoneme**) 的存在。这些特殊的丝足样突触或从靶细胞或从产生信号的细胞上延伸出很长的距离（大于 100 μm），就像连接两种细胞类型的长细胞膜管道 (Roy and Kornberg 2015)。根据这个模式，靶细胞延伸出的细胞突触桥前端与信号源细胞膜直接接触时，配体与受体的结合将会首先发生在突触桥的末梢。然后，配体与受体复合物将沿细胞突触桥转运到靶细胞的胞体。

细胞突触桥介导的形态发生素信号传递是 Thomas Kornberg 的实验室在研究果蝇气囊和翅成虫盘时发现的（Roy et al. 2011）。一簇称为气囊原基（ASP）的细胞受翅成虫盘中 DPP（一个 BMP 的同源物）和 FGF 形态发生素梯度的诱导后沿翅成虫盘的基面发育（**图 4.42A，B**）。Kornberg 的实验室发现，气囊原

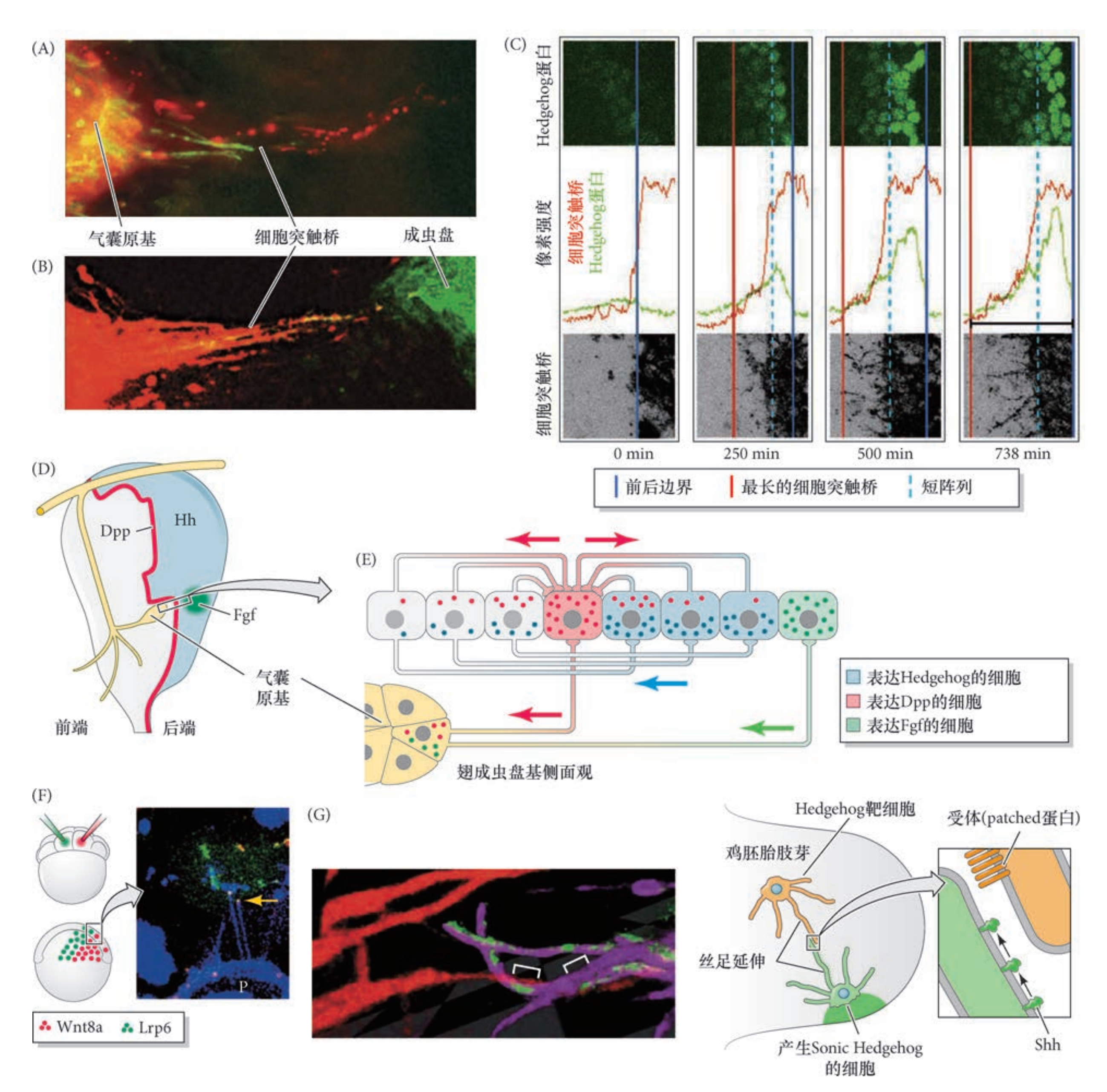


图 4.42 果蝇、斑马鱼、小鼠中丝足转运的形态发生素。(A) 果蝇气囊原基（ASP）的细胞突触桥伸向翅成虫盘上皮以运送 FGF（绿色）和 DPP（红色）形态发生素。(B) 运送的 DPP 受体结合翅成虫盘细胞产生的 DPP，将其通过细胞突触桥运送到气囊原基。(C) 果蝇翅成虫盘细胞突触桥体系能在丝足延伸上（下排的黑色突触和红色曲线）建立 Hedgehog (Hh) 蛋白（上排和曲线中的绿色）的梯度。(D) 果蝇翅成虫盘与气管细胞（即气囊原基）相互作用的示意图。表达 DPP、Hh 和 Fgf 的细胞分别用蓝色、红色和绿色区域显示。(E) 是 (D) 图中被框出区域的横切面放大图，显示气囊原基细胞的突触桥延伸、翅成虫盘细胞之间的突触桥延伸，以及沿这些细胞突触桥产生和转运的形态发生素（红色箭所示）。(F) 在斑马鱼早期囊胚的两个细胞中分别注射 Wnt8a（红色）和 Lrp6（绿色）。在原肠胚时这些细胞的活体成像显示，Wnt8a 与 Lrp6 在它们的表达细胞所延伸出的丝足末端相互作用（P，黄色箭所示）。(G) 在鸡的肢芽，有研究显示后部区域产生 Sonic hedgehog 的细胞（左图中表达绿色 Shh 蛋白的紫色细胞）和肢芽前端的靶细胞都形成长细的丝足突触。这些反向的丝足直接相互作用（左图），并且 Shh 与其受体 Patched 在作用位点处相结合（如右图所示）。Fgf：成纤维细胞生长因子；Lrp6：低密度脂蛋白相关蛋白 -6 受体（A 图和 B 图来自 Roy and Kornberg 2011；C 图来自 Bischoff et al. 2013；F 图来自 Stanganello et al. 2015；G 图来自 Sanders et al. 2013）。

基细胞向表达 DPP 和 FGF 的细胞延伸出细胞突触桥，这些突触桥上具有形态发生素的受体，而且不同的突触桥上有不同的受体。此外，他们也证明，结合在气囊原基细胞的 DPP 沿细胞突触桥移动到胞体。Hedgehog 信号梯度介导的翅成虫盘的前后图式化形成看似也通过细胞突触桥来实现（图 4.42C）。表达在后端细胞的 Hedgehog 通过前端细胞基侧面伸出的细胞突触桥被输送到前端细胞（图 4.42D，E；Bischoff et al. 2013）。

近来的研究证明在脊椎动物中也有细胞突触桥。Michael Brand 实验室的工作及 Steffen Scholpp 实验室最新的工作都证明原肠胚形成过程中细胞通过细胞突触桥样的延伸转运形态发生素 Wnt8a。在这种情况下，信号源细胞伸出细胞突触桥，将 Wnt8a 转运到靶细胞（图 4.42F；Luz et al. 2014；Stanganello et al. 2015）。类似于细胞突触桥的相互作用也有可能在一个典型的形态发生素信号传递过程中发挥功能，即四足动物肢芽前 - 后轴的特化。在这里，肢芽上的 Sonic hedgehog（Shh）从后到前的梯度使指（趾）正确地图式化（见第 9 章）。在鸡的肢芽，表达 Sonic hedgehog 的细胞和前部的靶细胞互相伸出丝足样的突触物，在 Sonic hedgehog 受体（Patched）表达的位点相接触（图 4.42G；Sanders et al. 2013）。

拓展性问题

相对于细胞外基质介导的扩散，我们认为是旁分泌因子的所有分子是否只通过丝足样的细胞突触桥进行分布？这个问题在发育生物学家之间有越来越多的争论。你站在哪一边？你是一个“扩散论者”，还是一个“突触桥论者”？有没有两种机制并存的可能，或者，也许两种机制都是发育所需要的？

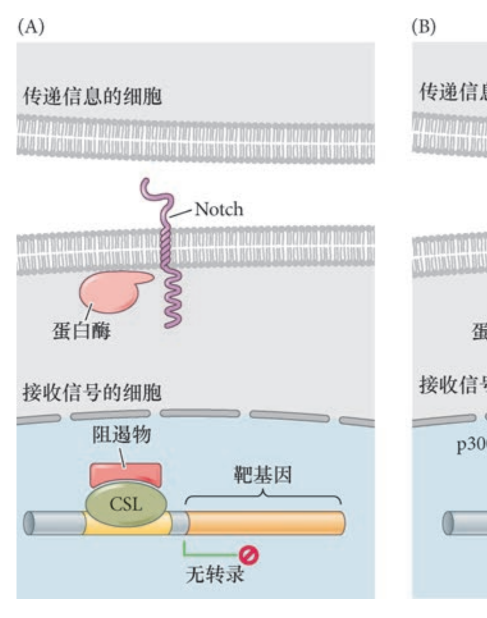
科学家讲座 4.6　加利福尼亚大学（旧金山）Thomas Kornberg 博士关于细胞突触桥介导的转运和直接传送模型的 iBiology 讲座。

4.8　近分泌信号传递对细胞特征的作用

在近分泌相互作用中，诱导性细胞产生的蛋白质与邻近应答细胞的受体相作用，因此诱导物蛋白不需要扩散出去。三个最常见的近分泌因子家族包括：**Notch 蛋白**（**Notch protein**，结合以 Delta 蛋白为代表的一个家族的配体）；**细胞黏附分子**（**cell adhesion molecule**），如钙黏着蛋白；**肝配蛋白受体**（**eph receptor**）以及它们的**肝配蛋白配体**（**ephrin ligand**）。一个细胞的肝配蛋白与另一个邻近细胞的肝配蛋白受体结合时，信号就会传递到这两个细胞内（Davy et al. 2004；Davy and Soriano 2005）。这些信号通常都是一些吸引或排斥信号，并且肝配蛋白经常表达在细胞需要迁移到达的位置或需要形成边界的位置。我们将会看到肝配蛋白和肝配蛋白受体在血管、神经元和体节形成中发挥功能。下面我们将详细描述 Notch 蛋白及其配体，并讨论细胞黏附分子如何参与一个重要的发育信号途径，即 Hippo 信号途径。

4.8.1　Notch 信号途径：并置的配体和受体对图式形成的作用

尽管大多数已知的诱导调节物都是扩散性蛋白，还有一些诱导性蛋白一直结合在细胞表面。在其中这样一个途径中，一些在膜上表达 Delta、Jagged 和 Serrate 蛋白（配体）的细胞激活另一些在膜上表达 Notch 蛋白（受体）的邻近细胞（见 Artavanis-Tsakakonas and Muskavitch 2010）。Notch 的细胞外结构域与邻近细胞上的 Delta、Jagged 或 Serrate 蛋白的细胞外结构域相接触。与三个配体之一结合后，Notch 产生构象变化，它的细胞内结构域被衰老蛋白 -1 蛋白酶切割。切割下来的片段进入细胞核，与一个处在休眠状态的 CSL 家族的转录因子结合。而 CSL 家族转录因子与 Notch 结合后便能激活它们的靶基因（图 4.43；Lecourtois and Schweisguth 1998；Schroeder et al. 1998；Struhl and Adachi 1998）。这个激活作用可能需要招募组蛋白乙酰转移酶（Wallberg et al. 2002）。因此，可以认为 Notch 是一个被绑定在细胞膜上的转录因子。当这种膜结合被破坏时，Notch（或它的一部分）离开细胞膜，然后进入细胞核（Kopan 2002）。



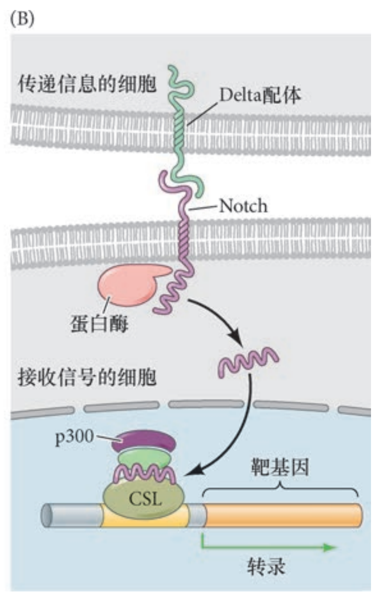


图 4.43 Notch 激活的机制。(A) 在 Notch 信号传递之前，一个 CSL 转录因子（比如 Suppressor of hairless 或 CBF1）结合在 Notch 调节基因的增强子上。CSL 转录因子结合一些转录阻遏物。(B) Notch 激活的模型。一个细胞上的一个配体（Delta、Jagged 或 Serrate 蛋白）结合邻近细胞上的 Notch 细胞外结构域，导致 Notch 细胞内结构域的构象变化并激活一个蛋白酶。这个蛋白酶将 Notch 切割，使 Notch 的细胞质部分进入细胞核并与 CSL 转录因子结合。Notch 的细胞质部分置换阻遏物蛋白并结合转录激活物，包括组蛋白乙酰转移酶 p300。被激活的 CSL 便能转录靶基因。Notch：Notch 受体；p300：组蛋白乙酰转移酶 p300（参考 K. Koziol-Dube，个人交流）。

Notch 蛋白在脊椎动物中参与众多器官的形成，包括肾、胰腺和心脏，它也是神经系统中至关重要的受体。在果蝇和脊椎动物的神经系统，Delta 与 Notch 的结合指令接收信号的细胞变成神经细胞（Chitnis et al. 1995；Wang et al. 1998）。对于脊椎动物的眼，Notch 与配体的相互作用调节一些细胞形成视神经元而另一些细胞形成胶质细胞（Dorsky et al. 1997；Wang et al. 1998）。

在细胞对细胞的水平上的确能发生诱导作用，一个最好的例子就是线虫阴门的形成。值得注意的是，参与这个过程的信号转导途径竟然与参与果蝇视网膜受体形成的途径相同，只有靶点转录因子有所不同。在这两种情况下，表皮生长因子样的诱导物激活受体酪氨酸激酶途径，引起 Notch 和 Delta 信号的差异性调节。

网络话题 4.3 **Notch 的突变** 人类有不止一个编码 Notch 蛋白的基因和不止一个编码配体的基因。它们之间的相互作用对神经发育至关重要，*Notch* 基因的突变导致神经系统异常。

4.8.2 旁分泌和近分泌信号的协调：线虫阴门的诱导

大多数线虫个体都是雌雄同体。在早期发育过程中它们都是雄性，生殖腺形成精子，储存在体内以备后用。当线虫逐渐长大时，卵巢开始发育。卵从储存精子的位置“滚动”过去，在体内受精，然后通过阴门排到体外（见第 8 章；Barkoulas et al. 2013）。阴门的形成发生在幼体时期，源于称为**阴门前体细胞**（**vulval precursor cell，VPC**）的 6 个细胞。连接上部的生殖腺和阴门前体细胞的是**锚细胞**（**anchor cell**；图 4.44）。锚细胞分泌 LIN-3 蛋白，这是一个旁分泌因子（与哺乳动物的表皮生长因子，或称 EGF 相似），能激活受体酪氨酸激酶途径（Hill and Sternberg 1992）。如果锚细胞被破坏（或 *lin-3* 基因突变），阴门前体细胞就不能形成一个阴门，取而代之的是，这些细胞将变成下皮或皮肤的一部分（Kimble 1981）。

这 6 个受锚细胞影响的阴门前体细胞组成了一个**均等组**（**equivalence group**）。每个细胞都具有被锚细胞诱导的反应能力，向三种命运的任何一个方向分化，这取决于它与锚细胞的距离。直接位于锚细胞下部的细胞在分裂后变成中央阴门细胞。中央细胞两侧的两个细胞在分裂后变成侧阴门细胞，而离锚细胞最远的三个细胞产生下皮细胞。如果锚细胞被破坏，这个均等组的所有细胞经过一次分裂后形成下皮组织。如果三个中央的阴门前体细胞被破坏，另外三个原本要形成下皮的外侧细胞将会产生阴门细胞。

锚细胞分泌的 LIN-3 形成一个浓度梯度，最接近锚细胞的那个阴门前体细胞（即 P6.p 细胞）接收最高浓度的 LIN-3，形成中央阴门细胞。两个邻近的阴门前体细胞（P5.p 和 P7.p）接收稍低浓度的 LIN-3，

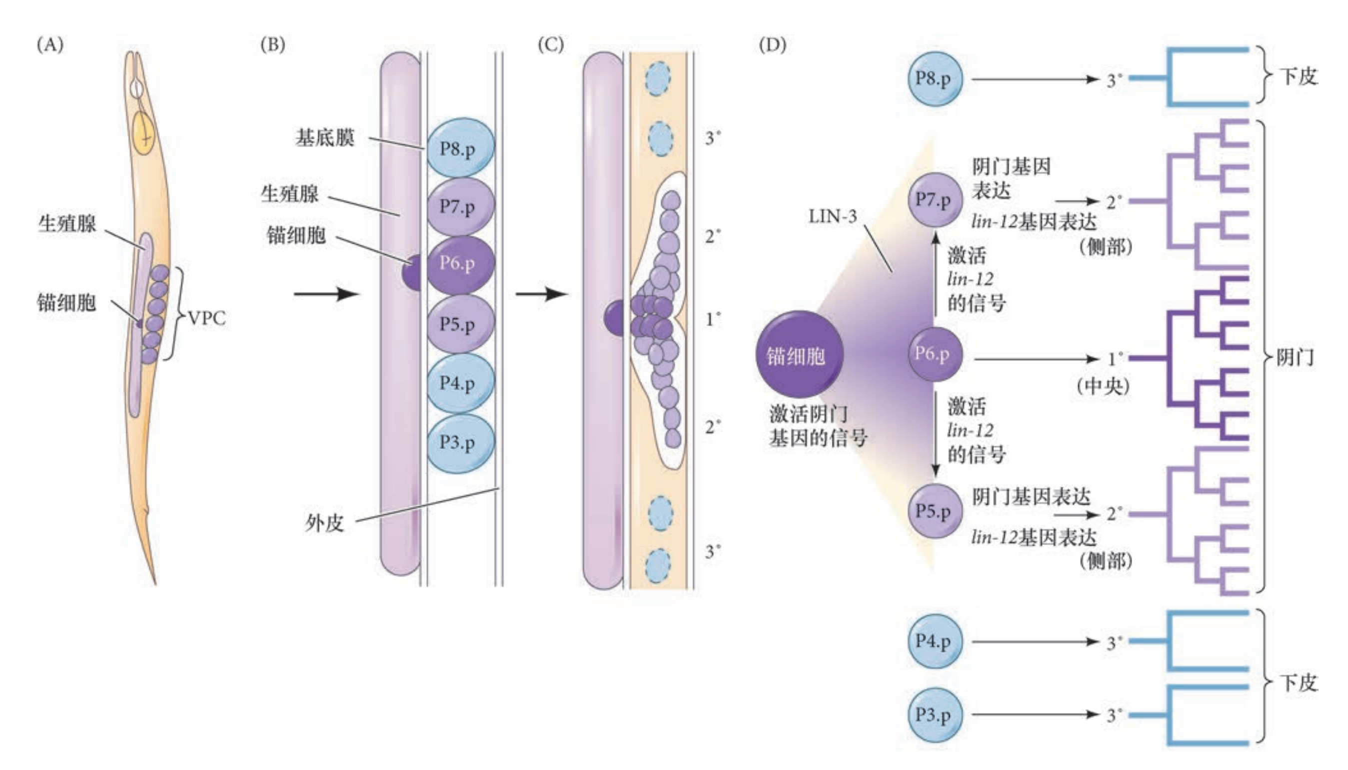


图 4.44　线虫阴门前体细胞（VPC）和它们的后代。(A) 第二龄幼体的生殖腺、锚细胞及阴门前体细胞的位置。(B，C) 锚细胞与 6 个阴门前体细胞及其后续谱系的关系。初级（1°）谱系产生中央阴门细胞，次级（2°）谱系组成侧部阴门细胞，三级（3°）谱系形成下皮细胞。(C) 第四龄幼体阴门的略图。圆圈代表细胞核的位置。(D) 线虫阴门细胞谱系决定的模型。来自锚细胞的 LIN-3 表皮生长因子信号决定 P6.p 细胞形成中央阴门谱系的命运（暗紫色）。低浓度的 LIN-3 使 P5.p 和 P7.p 细胞形成侧部阴门谱系。P6.p（中央谱系）细胞也分泌短距离的近分泌信号，诱导邻近的细胞激活 LIN-12（Notch）蛋白。这个信号阻止 P5.p 和 P7.p 细胞产生初级中央阴门谱系（参考 Katz and Sternberg 1996）。

变成侧阴门细胞。离锚细胞最远的阴门前体细胞不能接触到足够和能起作用的 LIN-3，所以它们变成下皮（Katz et al. 1995）。

Notch 和 Delta 与侧抑制　我们刚介绍了形成阴门的均等组细胞接收 EGF 样 LIN-3 信号而被诱导。但是，在这个诱导发生之前，有一个更早的形成锚细胞的互作。锚细胞的形成受 *lin-12* 基因介导，而 *lin-12* 是 *Notch* 基因在线虫中的同源物。在野生型雌雄同体的线虫中，有两个邻近的细胞——Z1.ppp 和 Z4.aaa，都具有变成锚细胞的潜能。它们相互作用以至于其中一个细胞变成锚细胞而另一个细胞变成子宫组织前体。在缺失 *lin-12* 的突变体中，这两个细胞都变成锚细胞；而在获得功能的突变体中，两个细胞都变成子宫前体（Greenwald et al. 1983）。遗传嵌合体和细胞移除的研究证明，这两个细胞的命运决定发生在第二幼体期，并且只有注定要变成子宫前体的细胞才需要 *lin-12* 基因，而预定锚细胞不需要 *lin-12* 的功能。Seydoux 和 Greenwald（1989）猜测，这两个细胞既表达子宫发育的信号（LAG-2 蛋白，Delta 的同源物），也表达这个分子的受体（LIN-12 蛋白，Notch 的同源物；Wilkinson et al. 1994）。

在幼体发育的某一个特定时间，一个偶然分泌更多 LAG-2 的细胞使一个邻近的细胞停止产生这个分化信号，而更多地产生 LIN-12。分泌 LAG-2 的那个细胞就变成了生殖腺的锚细胞，而通过 LIN-12 接收 LAG-2 的那个细胞则变成腹侧子宫前体细胞（图 4.45）。因此，这两个细胞的命运被认为是在各自分化之前受到了相互的决定。当 LIN-12 在阴门形成过程中再次发挥作用时，它被初级阴门谱系的信号激活，这个信号使一些侧阴门细胞停止形成中央阴门细胞（见图 4.44）。所以，锚细胞和腹侧子宫前体细胞的选择显示了在两个初始均等细胞中命运决定的两个重要方面。首先，这两个细胞之间的最初差异是偶然性造成的；其次，这个最初的差异被反馈作用所加强。这种 Notch 和 Delta 介导的限制邻近细胞命运的机制称为**侧抑制**（**lateral inhibition**）。

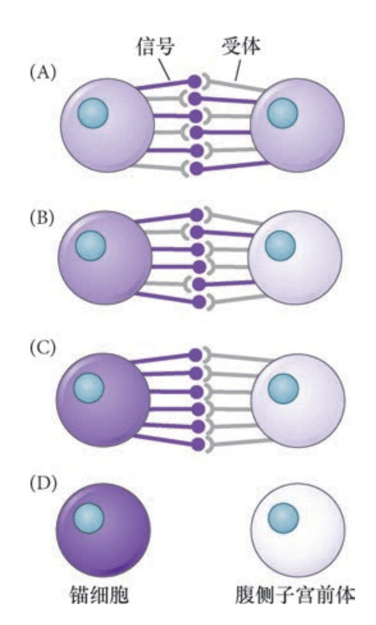


图 4.45 线虫的两个均等细胞（Z1.ppp 和 Z4.aaa）产生两种细胞类型（锚细胞和腹侧子宫前体细胞）的模型。(A) 一些细胞在最初是均等的，产生不稳定量的信号和受体。*lag-2* 基因被认为编码一个信号，而 *lin-12* 基因编码一个受体。信号的接收使 LAG-2（Delta 蛋白）的表达降低，并使 LIN-12（Notch 蛋白）的表达增高。(B) 在某一个特定的关键时间，一个随机（偶然）事件使一个细胞比另一个细胞产生更多的 LAG-2，而 LAG-2 刺激邻近的细胞表达更多的 LIN-12 蛋白。(C) 这个差异会被进一步扩增，因为产生更多 LIN-12 的细胞中 LAG-2 的表达降低。最终，只有一个细胞能发送 LAG-2 信号，另一个细胞只能接收这个信号。(D) 发送信号的细胞变成锚细胞，而接收信号的细胞变成腹侧子宫前体细胞（参考 Greenwald and Rubin 1992）。

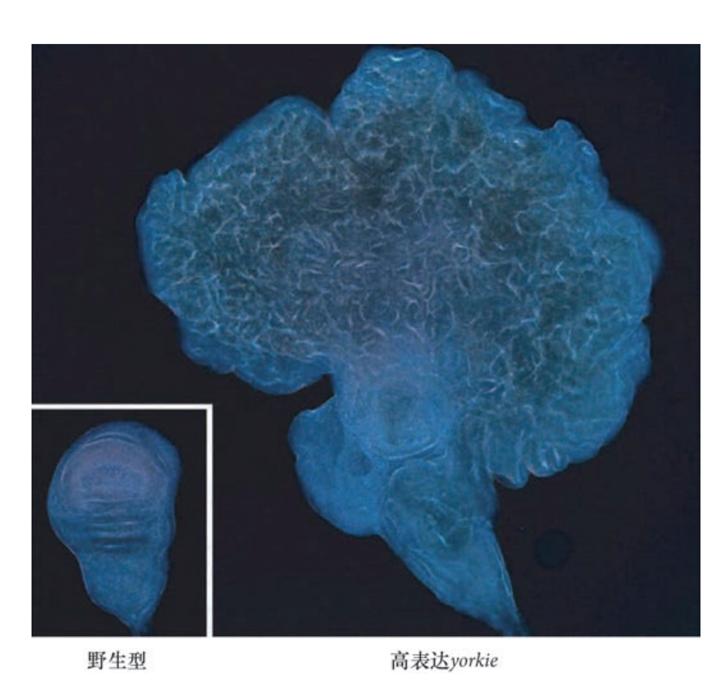


图 4.46 Hippo 信号途径对控制器官的规模有关键的作用。与同时期的野生型成虫盘比较，在果蝇中高表达 *yorkie*（Hippo 激酶的主要转录效应物）导致翅成虫盘极端地过度生长，产生“河马”样的巨大表型（照片来自 Huang et al. 2005）。

4.8.3 Hippo：信号途径的集成器

我们已经描述过的大多数信号转导途径都是以在膜上启动信号传递的参与者来命名的。但是，Hippo 信号转导途径没有一个专有的配体或受体。Hippo 是对器官大小的调控起关键作用的很多重要激酶之一。它首次在果蝇中被鉴别出来，因为它的功能缺失引起过度的生长，导致“河马”样（“hippopotamus”）的巨大表型（Hansen et al. 2015）。缺失 Hippo 功能（或高表达它的主要转录因子，Yorkie）引起细胞分裂明显加快，同时也伴随着细胞凋亡的减缓（**图 4.46**；Justice et al. 1995；Xu et al. 1995；Huang et al. 2005）。

Hippo 信号级联反应的重要成员起始于细胞膜上细胞黏附分子参与的细胞与细胞之间的相互作用，如上皮钙黏素或 Crumbs（见图 5.7B）。这些细胞黏附分子与血管动蛋白（一种丝状肌动蛋白的结合蛋白）相作用，而血管动蛋白启动 Hippo 激酶级联反应的激活（Hansen et al. 2015）。这个级联反应中的主要激酶是大肿瘤阻抑蛋白 -1/2（Lats1/2；Warts 是果蝇中的同源物），它促使 Yorkie 或哺乳动物的同源物 Yap/Taz 发生磷酸化。被磷酸化后，Yap/Taz 或被保留在细胞质中或被降解，而缺失 Hippo 信号途径使 Yap/Taz 进入细胞核，作为 Tead（Scalloped 的同源物）的转录辅激活物行使功能。Hippo 信号途径的成员能通过许多方式调节其他旁分泌因子的信号途径，如 Wnt、表皮生长因子、转化生长因子 -β 及骨形态发生蛋白。同样，这些信号途径也能调节 Hippo 信号，主要是通过 Yap/Taz。因此，Hippo 信号途径已经成为细胞生化途径中一个主要的十字路口，使我们更加关注一个长期未解决的问题，即这些理论上是线性的途径如何被整合在一起。

下一步的研究

细胞如何传递信息、相互作用、明确它们在胚胎中的位置？在这一章里，我们描述了很多关于促进细胞之间附着、化学信号传送和环境信息应答的机制。从形态发生的生物物理学到细胞突触桥对形态发生素梯度的作用，仍有很多令人兴奋的下一步研究。在细胞和组织的规模上比较容易理解这些机制，我们相信你能提出一些有逻辑和令人振奋的实验设计来进一步验证这些机制。但是在这个领域里，我们还并不了解形态发生在整个胚胎规模上的协调。你如何将对细胞之间信息传递的认识应用到对整体胚胎协调发育的全面了解？在时间、规模、图式、运动和分化这些方面，你认为是否会有一个整体水平的调控？请注意，不管是在这本书的最后、在你的老师的笔记里、还是在谷歌搜索的结果中，针对这些问题都不会找到答案。真正的答案在于你对自己的观点和实验的完善之中。





开篇图的思考

这是不是一个细胞的天线？如果是，它的作用是什么？它是细胞用于传递信息的！这个图中显示的是脑神经干细胞的一个原纤毛，是一个像天线一样能使细胞接收环境信号的结构。我们讨论了一些信号蛋白对传递众多关于位置、黏附、细胞特化和迁移信息的关键作用。细胞信息传递的一些新机制正在涌现出来，如图中显示的原纤毛的关键作用、改变了我们认识形态发生素输送的细胞突触桥的潜在作用、细胞外基质的修饰作用和潜在的引导性作用、细胞黏附的物理特性如何分选各种类型的细胞并调节器官的规模（照片来自 Alvarez-Bullya et al. 1998）。

4　要点总结

细胞之间的信息传递

1. 一种细胞类型从另一种细胞类型的分选是因为细胞膜的差异。
2. 在细胞分选中起作用的膜结构通常是一些能改变细胞表面张力特性的钙黏着蛋白。它们能以量（不同数量的钙黏着蛋白）和质（不同类型的钙黏着蛋白）的差异引起细胞的分选。钙黏着蛋白看似对某些形态变化起关键作用。
3. 细胞通过肌动蛋白的变化进行迁移。这些变化可以来自内部的指令（细胞核）或外部的指令（细胞外基质或趋化分子）。
4. 诱导性相互作用涉及诱导和应答组织。应答诱导信号的能力取决于应答细胞的反应能力。对一个诱导物的特定应答受应答组织的基因组决定：
   - 当两个相互作用的组织都是诱导物并且都能应答对方的信号时会产生相互诱导；
   - 诱导事件的级联反应导致器官的形成；
   - 区域性特异的诱导能从同一应答组织中诱导出不同的结构。
5. 旁分泌相互作用是指一个细胞或组织分泌一些诱导邻近细胞发生变化的蛋白质。近分泌相互作用发生在邻近细胞的膜之间，或发生在一个细胞膜与另外一个细胞分泌的细胞外基质之间。
6. 诱导性细胞分泌旁分泌因子。这些因子与具有反应能力的细胞膜受体结合。反应能力是结合和

应答诱导物的能力，并且经常是一个预先诱导的结果。具有反应能力的细胞通过信号转导途径应答旁分泌因子。

7. 形态发生素是一些在不同浓度下影响不同基因表达的信号分子。
8. 信号转导途径起始于一个旁分泌或近分泌因子引起的细胞膜受体的构象改变。这种新的构象引起受体蛋白的细胞内结构域的酶活性，使得受体能磷酸化一些其他的细胞质蛋白。最终，一个级联的反应激活一个（或一组）转录因子，进而激活或抑制特定基因的活性。
9. 分化的状态能被转录因子、自分泌因子或旁分泌因子参与的正反馈回路所维持。
10. 细胞外基质既是一些信号的源头，也能改变信号在细胞之间的分泌，进而影响分化和细胞迁移。
11. 细胞能从上皮状态转换为间充质状态，反之亦然。上皮到间充质转换（EMT）是涉及神经嵴细胞扩散和体节细胞形成脊柱的一系列转化。在成体，EMT 参与创伤愈合和肿瘤转移。
12. 细胞表面密切参与信号传递。蛋白聚糖及其他成分能拓展或限制旁分泌因子的扩散。
13. 细胞表面的一些特殊结构，包括纤毛和片足，能聚集旁分泌因子和细胞外基质蛋白的受体。最新发现的细胞突触桥这种丝足样延伸能在信号源和应答细胞之间参与形态发生素的传送，并且可能是细胞信号传递的一个组分。
14. 近分泌信号传递涉及受体之间的局部性蛋白质相互作用。这样的例子包括通过侧抑制而图式化细胞命运的 Notch 和 Delta 信号，以及影响器官规模的 Hippo 信号。

拓展阅读

Ananthakrishnan, R. and A. Ehrlicher. 2007. The forces behind cell movement. *Int. J. Biol. Sci.* 3: 303–317.

Balasubramanian, R. and X. Zhang. 2015. Mechanisms of FGF gradient formation during embryogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* doi:10.1016/j.semcdb.2015.10.004.

Bischoff, M. and 6 others. 2013. Cytonemes are required for the establishment of a normal Hedgehog morphogen gradient in *Drosophila* epithelia. *Nature Cell Biol.* 11: 1269–1281.

Briscoe, J. and P. P. Thérond. 2013. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 416–429.

Fagotto, F., N. Rohani, A. S. Touret and R. Li. 2013. A molecular base for cell sorting at embryonic boundaries: Contact inhibition of cadherin adhesion by ephrin/ Eph-dependent contractility. *Dev. Cell* 27: 72–87.

Foty, R. A. and M. S. Steinberg. 2013. Differential adhesion in model systems. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 2: 631–645.

Hansen, C. G., T. Moroishi and K. L. Guan. 2015. YAP and TAZ: A nexus for Hippo signaling and beyond. *Trends Cell Biol.* 25: 499–513.

Heldin, C.-H., K. Miyazono and P. ten Dijke. 1997. TGF-β signaling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 390: 465–471.

Huangfu, D., A. Liu, A. S. Rakeman, N. S. Murcia, L. Niswander and K. V. Anderson. 2003. Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature* 426: 83–87.

Kakugawa, S. and 11 others. 2015. Notum deacylates Wnt proteins to suppress signalling activity. *Nature* 519: 187–192.

Molina, M. D., N. de Crozé, E. Haillot and T. Lepage. 2013. Nodal: Master and commander of the dorsal-ventral and left-right axes in the sea urchin embryo. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 23: 445–453.

Müller P. and A. F. Schier. 2011. Extracellular movement of signaling molecules. *Dev. Cell* 21: 145–158.

Nahmad, M. and A. D. Lander. 2011. Spatiotemporal mechanisms of morphogen gradient interpretation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 21: 726–731.

Roy, S. and T. B. Kornberg. 2015. Paracrine signaling mediated at cell-cell contacts. *Bioessays* 37: 25–33.

Saito-Diaz, K. and 6 others. 2013. The way Wnt works: Components and mechanism. *Growth Factors* 31: 1–31.

Stanganello, E. and 8 others. 2015. Filopodia-based Wnt transport during vertebrate tissue patterning. *Nature Commun.* 6: 5846.

van Amerongen, R. and R. Nusse. 2009. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development* 136: 3205–3214.

van den Heuvel, M., C. Harryman-Samos, J. Klingensmith, N. Perrimon and R. Nusse. 1993. Mutations in the segment polarity genes *wingless* and *porcupine* impair secretion of the wingless protein. *EMBO J.* 12: 5293–5302.

Yu, S. R. and 7 others. 2009. Fgf8 morphogen gradient forms by a source-sink mechanism with freely diffusing molecules. *Nature* 461: 533–536.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

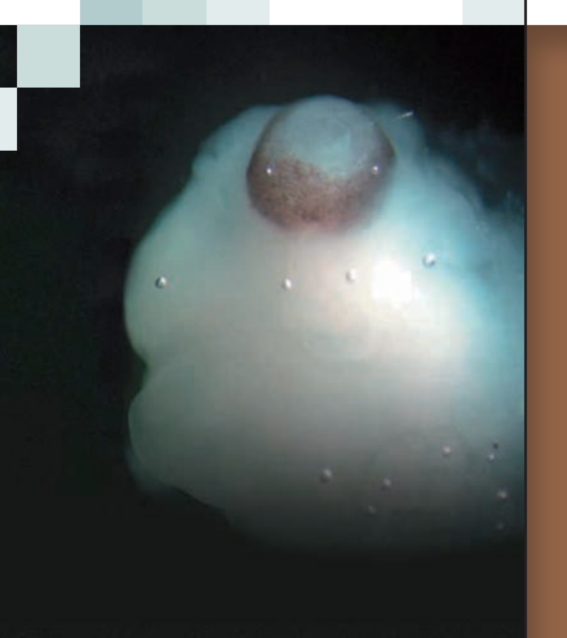
查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 5 章

干细胞

干细胞的潜能和微环境

这真是培养皿里的一个眼睛和一个脑吗?



我们已经分析了细胞在特化、命运决定和最终分化水平上的细胞成熟过程，所有这些过程都是通过细胞之间的信息传递和基因表达的调控来完成的。没有比干细胞更好的例子可以用来概括这一全部过程。

一个**干细胞**（**stem cell**）既有保持分裂和自我复制的能力，同时也具有产生更为分化类型的子代的能力。干细胞有时被称为“未分化”细胞，因为这些细胞仍然维持了增殖的特性。有很多不同类型的干细胞，但实际上它们的“未分化”状态只是指它们所保留的分裂能力。由于干细胞维持了增殖和分化的能力，因此具有改变现代医学的巨大潜能。

目前，在发育生物学领域不断取得新认知的步伐中，只有少数的问题能与干细胞的研究媲美。在这一章，我们将讨论关于干细胞的一些根本问题：控制干细胞分裂、自我更新和分化的机制是什么？在什么地方有干细胞？它们在一个胚胎、一个成体或一个培养皿中的区别是什么？科学家和临床医生如何使用干细胞来研究和治疗疾病？

要点

干细胞不但保持分裂的能力，同时也能产生分化的后代。干细胞类型之间的差异是基于它们产生不同细胞命运的潜能。因为胚胎干细胞具有多能性，它们能产生身体的每一种细胞，而一个成体干细胞虽然也具有多能性，但它只能形成所在组织的不同细胞类型。干细胞位于“干细胞巢”，是提供局部和长距离信号的微环境，能调节干细胞的休眠、分裂和分化状态。微环境的一个普遍调节机制是修饰一些参与干细胞与微环境连接的细胞黏附分子的变化。黏附的缺失使干细胞或它们的后代离开促休眠信号（通常是一些旁分泌因子），因此会促进分裂和分化。人类多能干细胞和局限性多能干细胞的分离及定向分化为研究人的发育和疾病提供了前所未有的机遇。干细胞的精确调节能帮助构造一个胚胎、维持和再生组织，并且能潜在地提供治疗疾病的细胞疗法。

5.1 干细胞的概念

如果一个细胞能够分裂，并且在分裂时产生一个自身的复制品［这个过程称为**自我更新**（**self-renewal**)］，以及一个进一步发育和分化的子细胞，这个细胞便是一个干细胞。因此，干细胞具有产生很多不同类型的分化细胞的能力或**潜能**（**potency**）。

发育辅导课 干细胞 **Michael Barresi 博士关于干细胞生物学基础的讲座。**

5.1.1 分裂和自我更新

在分裂时，一个干细胞可以产生一种能成熟为终末分化细胞类型的子细胞。细胞分裂可以是对称的，也可以是不对称的。如果一个干细胞经历对称分裂，它能产生两个自我更新的干细胞，或者两个命运受到定型而进行分化的子细胞，这样会分别导致驻留干细胞群体的扩增或减少。相反，如果一个干细胞进行不对称分裂，它将稳定干细胞储备，并能产生一个继续分化的子细胞。这种在每一次分裂时产生两种类型细胞（一个干细胞和一个发育命运定型的细胞）的策略称为**单干细胞不对称性**（**single stem cell asymmetry**）模式，并且该模式见于很多类型的干细胞（图 **5.1A**）。

另一种（但不是互相排斥的）维持细胞稳态的方式是干细胞分裂的**群体不对称性**（**population asymmetry**）模式。这时，一些干细胞更倾向于产生分化的后代，这些细胞被另一些进行对称分裂以维持干细胞储备的细胞所补偿（图 **5.1B**；Watt and Hogan 2000；Simons and Clevers 2011）。

图 5.1 干细胞的概念。(A) 一个干细胞的基本概念是它能产生更多的干细胞，并同时形成命运受到定型而进行分化的细胞。这个过程称为不对称细胞分裂。(B) 一个干细胞群体也能通过群体不对称的方式得以维持。这时，一个干细胞具有对称分裂的能力，或者产生两个干细胞（因此增加一个干细胞的储备），或者两个命运定型的细胞（因此减少一个干细胞的储备），这被称为对称更新或对称分化。(C) 在很多器官，干细胞谱系能从一个局限性多能干细胞（可以形成很多种类型的细胞）转变为一个能形成一种或极少数细胞类型的命运定型干细胞，或者转变成一个祖细胞（也称为过渡性扩增细胞）。这个祖细胞能进行多次分裂的增殖，但这只是过渡性的，因为它的命运已经被定型，终将形成一种特定类型的分化细胞。

5.1.2 潜能性确定一个干细胞

一个干细胞在体内能产生的各种细胞类型确定了它的自然潜能。具有产生一个谱系的所有细胞类型

的干细胞可以说是具有**全能性**（**totipotent**）。在一些像水螅的生物中，每个细胞都具有全能性（见第 22 章）。在哺乳动物，只有受精卵和最初的 4 ～ 8 个细胞是全能性的，这意味着它们既能形成胚胎的谱系（躯体和生殖细胞），也能产生胚外谱系，即胎盘、羊膜、卵黄囊（图 5.2）。在 8 细胞期后不久，哺乳动物胚胎发育成一个外层（变成胚胎的胎盘部分）和一个形成胚胎本体的内细胞团。因此，这些内细胞团的细胞被认为是具有**多能性**（**pluripotent**），或者能产生胚胎本体的所有细胞。如果将这些内细胞团细胞从胚胎取出并培养在体外，它们能形成一个多能性的**胚胎干细胞**（**embryonic stem cell**）群体。

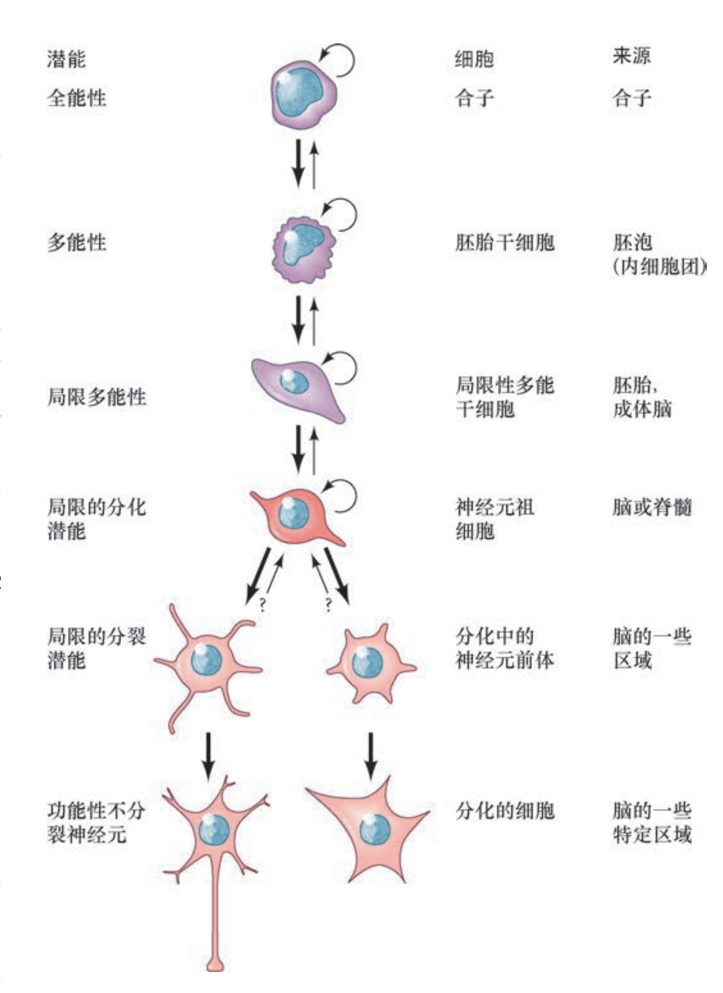


图 5.2　干细胞成熟过程的一个例子。图中显示神经元的分化（参考 http://thebrain.mcgill.ca/）。

每个胚层的细胞群体在扩张和分化时，驻留的干细胞仍维持在这些发育的组织中。这些干细胞具有**局限多能性**（**multipotent**），能为它们所在的组织产生局限性的细胞类型（图 5.1C；也见图 5.2）。从胚胎的肠到成体的肠，或从神经管到成体的脑，局限性多能干细胞对促进胚胎器官的发生和成体组织的再生都有关键作用。很多成体器官具有**成体干细胞**（**adult stem cell**），在多数情况下都具有局限多能性。除了已知的能产生所有血液细胞的造血干细胞以外，生物学家还在表皮、脑、肌肉、牙齿、肠和肺等组织发现了成体干细胞。不像多能干细胞，体外培养的成体或局限性多能干细胞仅能产生有限的细胞类型，也只具备次数有限的自我更新传代。这种成体干细胞的局限性自我更新会引起老龄化（Asumda 2013）。

一个局限性多能干细胞进行不对称分裂时，处于成熟过程的子细胞通常经历一个过渡时期，称为**祖细胞**（**progenitor**）或**过渡性扩增细胞**（**transit-amplifying cell**），如在血细胞、精子和神经元形成过程中出现的情况（见图 5.1C 和图 5.2）。祖细胞不能无限地自我更新；相反，它们在分化前只能分裂几次（Seaberg and van der Kooy 2003）。尽管分裂的次数有限，但这样的增殖有助于它们在终末分化前扩增祖细胞的储备。在这个祖细胞库中的细胞能沿着不同但相关的分化途径成熟。例如，造血干细胞产生血液和淋巴祖细胞，这些细胞进一步发育成分化的血细胞，包括红细胞、中性粒细胞、淋巴细胞（免疫应答细胞），如图 5.3 所示。然而另一个术语——**前体细胞**（**precursor cell**），或简单地称为**前体**（**precursor**），被广泛地用来代表一个特定谱系的任何祖先细胞类型（无论是干细胞还是祖细胞）；在干细胞和祖细胞的区分没有那么重要或无法区分的情况下，人们通常使用这个术语（见 Tajbakhsh 2009）。一些成体干细胞，如精原细胞，被称为**单能干细胞**（**unipotent stem cell**），因为它们在生物体内只产生一种细胞类型，精子细胞就是其中一个例子。各种干细胞类型分裂和分化的精确调控对胚胎的构建，以及对成体组织的维持和再生都是必要的。

科学家讲座 5.1　2009 年录制的胚胎和成体干细胞的发育专题片。

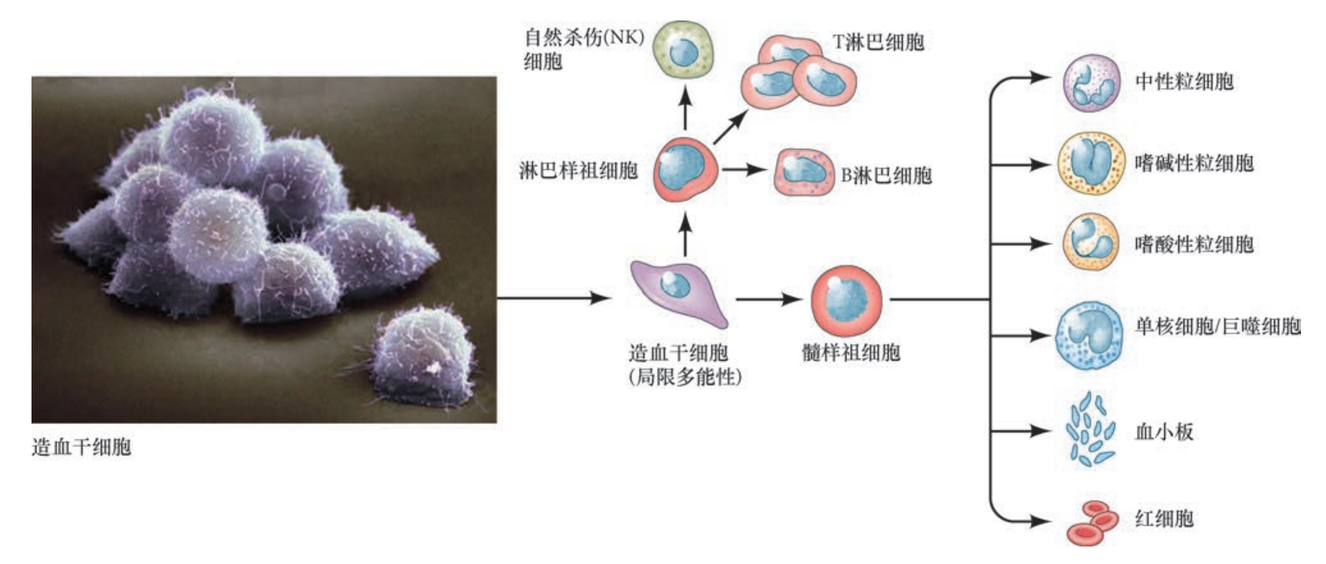


图 5.3 血液形成（造血）干细胞 (HSC)。这些局限性多能干细胞在一个个体的整个生命过程中产生血细胞。人骨髓源的造血干细胞（图片）通过分裂能产生更多的造血干细胞；或者，造血干细胞的后代细胞能变成淋巴样祖细胞（这些细胞分裂后形成适应性免疫系统的细胞）或髓样祖细胞（这些细胞变成其他血细胞前体）。每个细胞所经历的谱系路径都受造血干细胞微环境的调节（见图 5.15)（参考 http://stemcells.nih.gov/；图片为 SPL/Photo Researchers，Inc 版权所有）。

5.2 干细胞的调节

我们在前面已经提到，干细胞的基本功能主要是围绕着自我更新和分化。然而，在这些不同状态之间的干细胞是如何协调地受到调节，以满足胚胎和成体组织的图式化及形态发生的需求？这种调节在很大程度上受到包围干细胞的一个微环境所影响 (Schofield 1978)，这个环境称为**干细胞微环境** (**stem cell niche**)。越来越多的证据显示，所有的组织类型都具有一个独特的干细胞微环境，而且，尽管不同组织的干细胞微环境存在结构上的差异，干细胞调节的一些普遍原则却适用于所有的微环境。这些原则包括一些细胞外机制，进而引起调节干细胞行为的细胞内变化（**图 5.4**）。这些细胞外机制如下。

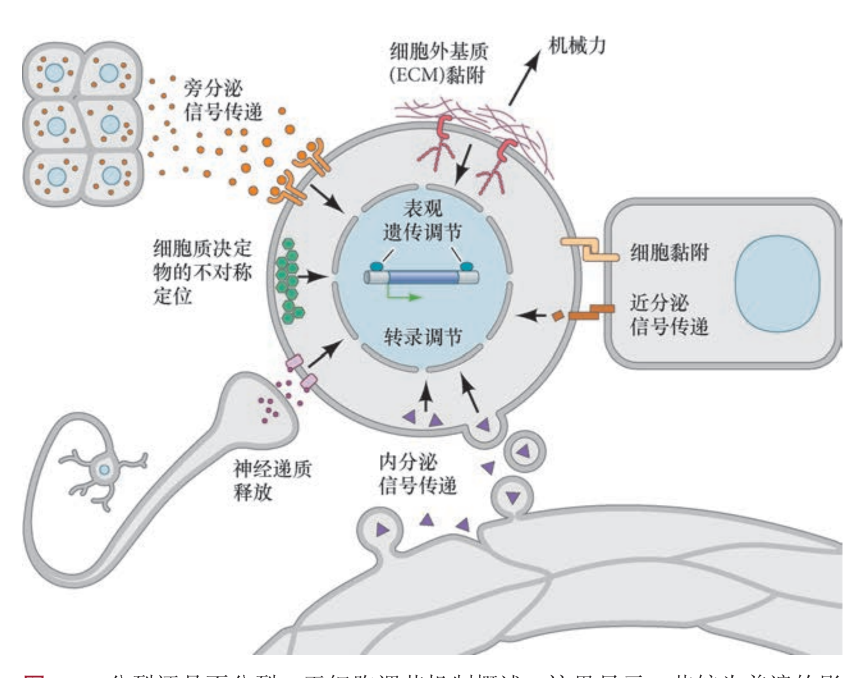


图 5.4 分裂还是不分裂：干细胞调节机制概述。这里显示一些较为普遍的影响一个干细胞休眠、增殖或分化的外部和内部分子机制。

- 物理机制的影响，包括一些支持微环境细胞构造的细胞外基质结构和黏附因子。细胞与细胞之间、细胞与细胞外基质的黏附，以及微环境中细胞的密度，都会改变影响干细胞行为的机械力。
- 化学调节对干细胞的影响来自周围细胞分泌的一些蛋白质，这些蛋白质通过内分泌、旁分泌或近分泌机制影响干细胞的状态和祖细胞的分化 (Moore and

Lemischka 2006；Jones and Wagers 2008）。在很多情况下，这些信号因子使干细胞维持在一个命运未定型的状态。但是，一旦干细胞的位置远离微环境，这些因子就不能接触到干细胞，这时干细胞便开始分化。

还有一些细胞内调节机制，具体如下。

- 细胞质决定物的调节，这些决定物的分配发生在胞质分裂过程中。一个干细胞在分裂时，决定细胞命运的一些因子或者被选择性地分配到一个子细胞（不对称分化分裂），或者被均分在两个子细胞（对称分裂）。
- 转录调节是通过转录因子的网络使干细胞保持在休眠或增殖状态，以及促进子细胞向特定的命运成熟。
- 表观遗传调节发生在染色质水平。染色质可及性的差异会影响与干细胞行为相关的基因表达。

一个特定的干细胞所使用的细胞内机制在一定程度上是微环境受细胞外信号刺激的下游最终结果。但是，一个干细胞在微环境内的发育过程也同等重要。下面我们描述一些较为熟知的干细胞微环境，突出它们的发育起源，以及调节干细胞行为的重要细胞外和细胞内机制。

5.3 胚胎中的多能干细胞

5.3.1 内细胞团细胞

哺乳动物的**内细胞团**（**inner cell mass，ICM**）多能干细胞是研究最多的干细胞类型之一。哺乳动物的合子在卵裂和桑椹胚形成后，通过成腔作用产生了胚泡[1]，它由一个球状层的**滋养外胚层细胞**（**trophectoderm cell**）包围内细胞团和充满液体的**囊胚腔**（**blastocoel**）组成（图 5.5）。在早期的小鼠胚泡，内细胞团由一簇大约 12 个细胞组成，黏附在滋养外胚层的一侧（Handyside 1981；Fleming 1987）。内细胞团随后发育成一簇称为上胚层的细胞及一层原始内胚层（卵黄囊）细胞，后者在上胚层和囊胚腔之间建立一个屏障。上胚层发育成胚胎的本体，产生成体哺乳动物所有的细胞类型（大于 200），包括原生殖细胞（见 Shevde 2012）；而滋养外胚层和原始内胚层形成胚外结构，即胎盘的胚胎部分、绒毛膜和卵黄囊（Stephenson et al. 2012；Artus et al. 2014）。很重要的是，体外培养的内细胞团或上胚层[2]能产生**胚胎干细胞**（**embryonic stem cell，ESC**），它们保持了多能性并能形成躯体的所有细胞类型（Martin 1980；Evans and Kaufman 1981）。但是，与内细胞团在体内的行为不同，胚胎干细胞在适当的培养条件下看似能无限地自我更新。我们将在这一章的后部分讨论胚胎干细胞的特性和应用。在这里我们着重讨论哺乳动物的胚泡能作为一个干细胞微环境，支持胚胎中唯一具有短暂多能性的内细胞团细胞的发育。

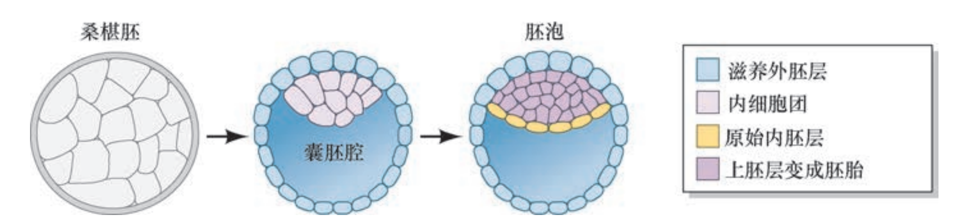


图 5.5 小鼠胚泡内细胞团（ICM，变成胚胎本体）的形成。图中显示从桑椹胚到胚泡时期的三种主要细胞类型：滋养外胚层、内细胞团、原始内胚层。

---

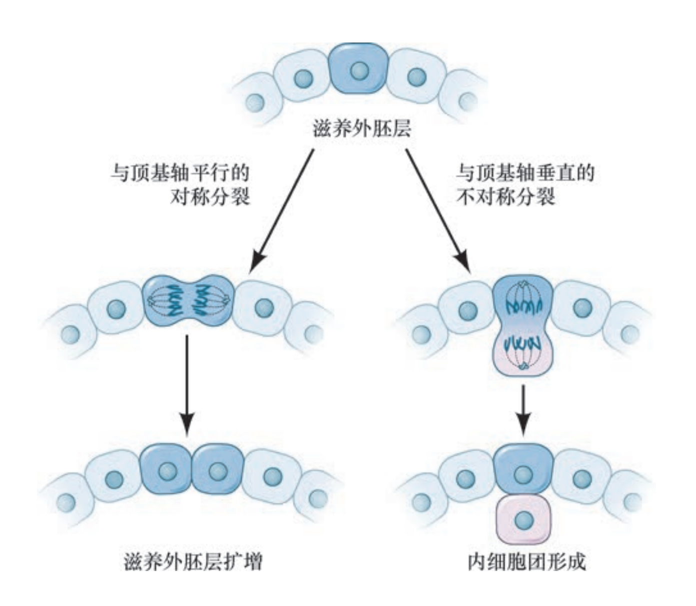
[1] 这个描述是一个泛化；不是所有哺乳动物早期胚泡的发育都经历同样的过程。例如，有袋类不形成内细胞团；相反，它们发育出一个扁平的细胞层，称为多能母细胞，这些细胞之后形成一个相当于上胚层和下胚层的结构。见 Kuijk 等（2015）文章中关于不同物种之间早期发育的惊人差异。

[2] 多数胚胎干细胞系最初来自内细胞团中多种细胞的共培养，之后，分离的细胞能进行克隆性增殖。

5.3.2 促进内细胞团细胞多能性的机制

对内细胞团短暂多能性起关键作用的因素是转录因子 Oct4 蛋白[3]、Nanog 蛋白和 Sox2 蛋白（Shi and Jin 2010）。这三个调节性转录因子对维持内细胞团中命运未决定的干细胞状态和多功能性是必要的，它们能使内细胞团形成上胚层及相关的细胞类型（Pardo et al. 2010；Artus and Chazaud 2014；Huang and Wang 2014）。有意思的是，这三个转录因子在上胚层开始分化时便不在内细胞团表达（Yeom et al. 1996；Kehler et al. 2004）。相反，转录因子 Cdx2 在桑椹胚的外层细胞中的表达出现上调，这能促进滋养外胚层的分化并抑制上胚层的发育（Strumpf et al. 2005；Ralston et al. 2008；Ralston et al. 2010）。

在预定内细胞团和滋养外胚层中调控基因时空表达图式的机制是什么？细胞与细胞之间的相互作用为这些胚层的初始特化和结构奠定了基础。首先，沿**顶基轴**（**apicobasal axis**）方向（从顶端到基部，或从胚胎的外部到内部）的细胞极性建立了产生两种不同细胞的对称或不对称分裂机制。与顶基轴垂直的不对称分裂将会产生位于胚胎外侧和内侧的子细胞，它们分别对应于滋养外胚层和内细胞团的发育。相反，与顶基轴平行的对称分裂将会使细胞质决定物均匀地分配在两个子细胞中，这样就会或者只在外侧的滋养外胚层，或者只在内细胞团中进一步增殖细胞（**图 5.6**）。



拓展性问题

是否有“干细胞性”这么一回事？成为一个干细胞是这个细胞的内在特性，还是它通过与干细胞微环境相互作用而获得的特性？微环境是否产生干细胞？你会用什么方法来确定一个特定器官有哪些这样的条件？

图 5.6 顶基轴的细胞分裂。取决于滋养外胚层细胞分裂的轴向，滋养外胚层可以被扩增（左图），或内细胞团得以形成（右图）。

在桑椹胚期，预定滋养外胚层的外部细胞中有一些沿顶基轴方向呈不对称定位的因子。人们比较熟悉的分配缺陷蛋白（PAR）和非典型蛋白激酶 -C（aPKC）家族的成员都是沿顶基轴方向不对称定位的。这些蛋白分配的一个结果就是将细胞黏附分子上皮钙黏素招募到外部细胞与内细胞团细胞接触的基侧膜（**图 5.7A**；见第 4 章；Stephenson et al. 2012；Artus and Chazaud 2014）。用实验的方法去除上皮钙黏素能破坏顶基轴极性，以及内细胞团和滋养外胚层谱系的特化（Stephenson et al. 2010）。上皮钙黏素是如何影响这些谱系的？

研究人员已经证明上皮钙黏素只在内细胞团中激活 Hippo 信号途径。我们在第 4 章已经讨论过，被激活的 Hippo 信号途径抑制 Yap-Taz-Tead 转录复合物，这样就能通过 Oct4 来维持多能性内细胞团的发育。在外部细胞，一些在顶端定位的分配蛋白抑制 Hippo 途径，导致 Yap-Taz-Tead 转录复合物的激活、*cdx2* 表达的上调和滋养外胚层细胞命运的决定（**图 5.7B**；Hirate et al. 2013）。因此，一些特定的蛋白质在细胞中的差异性定位能在邻近细胞中引起不同的基因调控网络的激活和不同细胞命运的决定。

---

[3] Oct4 也称为 Oct3、Oct3/4 和 Pou5f1。缺失 *Oct4* 的小鼠胚胎不能发育到胚泡期之后。这些小鼠不具备一个多能性的内细胞团，所有的细胞都分化成滋养外胚层（Nichols et al. 1998；Le Bin et al. 2014）。Oct4 的表达对衍生的原生殖细胞的多能性的维持也是必要的。

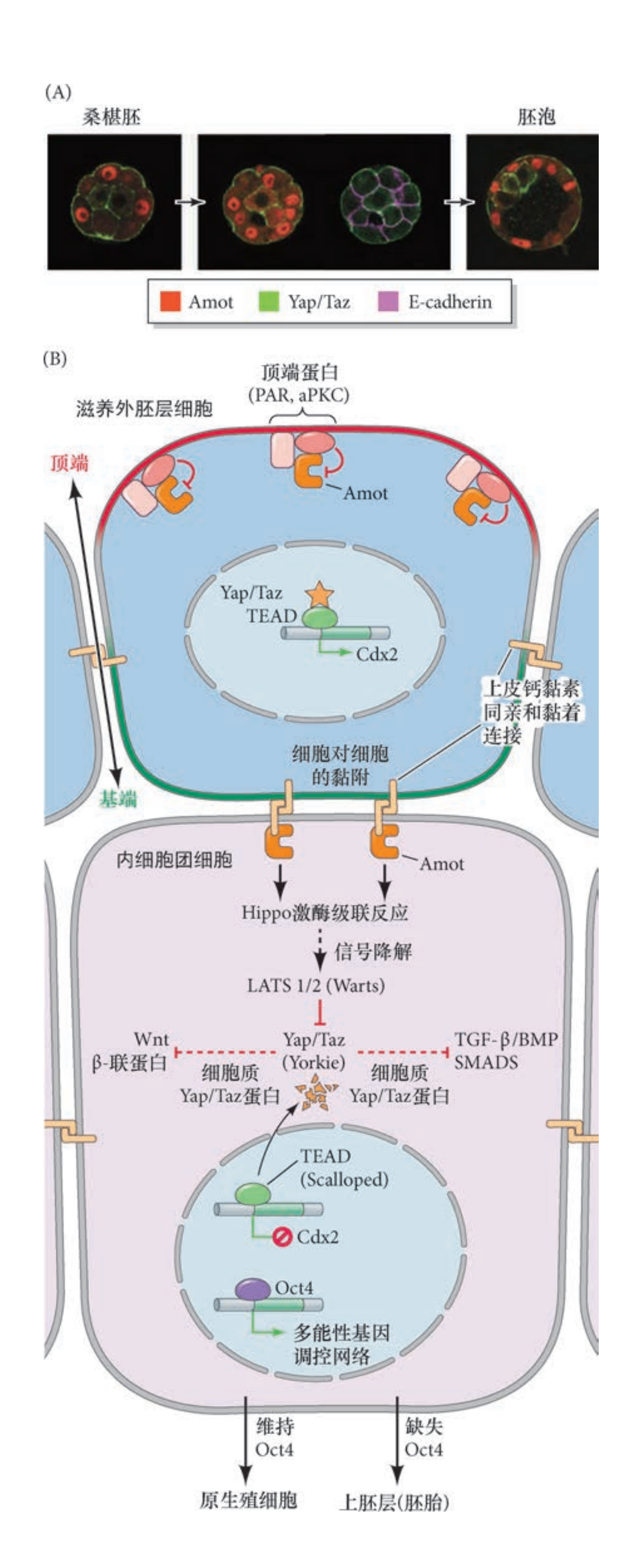


图 5.7 Hippo 途径与内细胞团发育。(A) Hippo 途径成员血管动蛋白 (Amot；红色) 和 Yap (绿色)，以及上皮钙黏素从桑椹胚到胚泡时期的免疫定位。活化的 Yap 蛋白定位在滋养外胚层的细胞核内，而上皮钙黏素 (紫色) 表达在滋养外胚层与内细胞团的细胞膜接触处。(B) 滋养外胚层 (上图) 和内细胞团 (下图) 细胞中的 Hippo 信号。上皮钙黏素与血管动蛋白结合后激活 Hippo 信号，结果是 Yap 蛋白在内细胞团中被降解。圆括号中的名称是果蝇中的同源物 (A 图来自 Hirate et al. 2013)。PAR：分隔缺陷蛋白；aPKC：非典型蛋白激酶 C；Amot：血管动蛋白；E-cadherin：上皮钙黏素；LATS 1/2 (Warts)：大肿瘤抑制蛋白 -1/2 蛋白 (Warts 蛋白)；TGF-β/BMP：转化生长因子 -β/ 骨形态发生蛋白

5.4 成体干细胞微环境

很多成体组织和器官都有进行自我更新的干细胞。这些组织和器官包括但不局限于各个物种的生殖细胞，以及哺乳动物的脑、表皮、毛囊、肠绒毛和血液。同样，局限性多能干细胞在具有再生能力的生物中也起主要作用，如水螅、蝾螈、斑马鱼。成体干细胞必须维持长期分裂的能力、具备产生一些分化子细胞的能力，并且能重新补充干细胞的储备。成体干细胞处在**成体干细胞微环境** (**adult stem cell niche**)，

这个微环境调节干细胞的自我更新、存活，以及离开微环境的后代细胞的分化（表 5.1）。下面我们介绍一些研究较为深入的微环境，包括果蝇生殖干细胞，以及哺乳动物的神经、肠上皮和造血干细胞微环境。很明显，这几个例子是不完整的，但可以用来突出一些调控干细胞发育的通用机制。

表 5.1　人的一些成体干细胞微环境

干细胞类型	微环境位置	微环境的细胞成分
低周转 [a]		
脑（神经元和神经胶质）	室管膜 - 室管膜下区（V-SVZ；见图 5.10）、颗粒层下区	室管膜细胞、血管上皮
骨骼肌	基板与肌纤维之间	肌纤维细胞
高周转 [a]		
间充质干细胞（MSC）	骨髓、脂肪组织、心脏、胎盘、脐带	有可能是血管上皮
肠	小肠隐窝基部（见图 5.13）	帕内特细胞、间充质干细胞
造血（血形成）干细胞（HSC）	骨髓（见图 5.15）	巨噬细胞、调节性 T 细胞、成骨细胞、周细胞、神经胶质、神经元、间充质干细胞
表皮（皮肤）	表皮基层	真皮成纤维细胞
毛囊	毛囊外根鞘隆突（见图 16.17）	真皮乳头、脂肪细胞前体、皮下脂肪、角蛋白
精子	精巢	支持细胞（见图 6.21）

[a] 细胞周转速度低的微环境产生用于修复、慢生长及学习（针对神经元）的干细胞；细胞周转速率高的微环境持续性产生维持躯体的新细胞。

5.4.1　果蝇干细胞促进生殖细胞发育

果蝇精巢干细胞微环境　雄性果蝇精巢的干细胞微环境能很好地说明局部信号、细胞与细胞的黏附，以及不对称细胞分裂的重要性。精子干细胞位于一个称为**聚集中心**（**hub**）的调节性微环境（图 5.8）。这个聚集中心由大约 12 个精巢体细胞组成，并被 5 ～ 9 个**生殖干细胞**（**germ stem cell**，**GSC**）环围。一个精子干细胞的分裂是不对称的，总是产生一个与聚集中心保持附着的细胞和一个不附着的细胞。附着在聚集中心的子细胞保持干细胞状态，而不接触聚集中心的细胞将变成**精原母细胞**（**gonialblast**），这是一个命运定型的祖细胞，将进行分裂而变成精子细胞的前体。聚集中心的体细胞参与建立这个不对称的增殖，

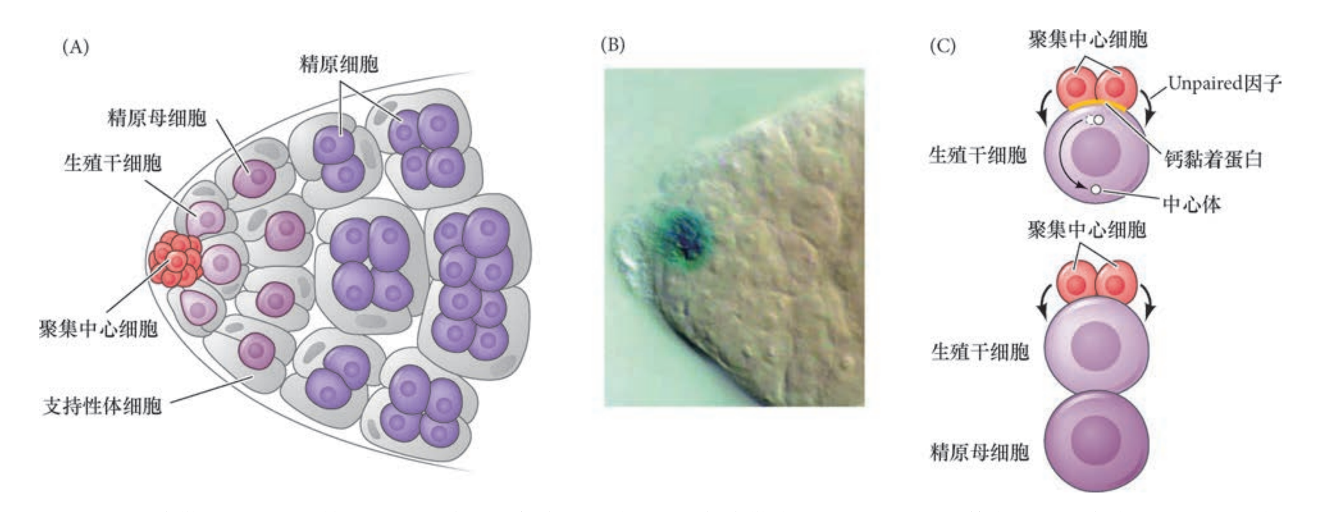


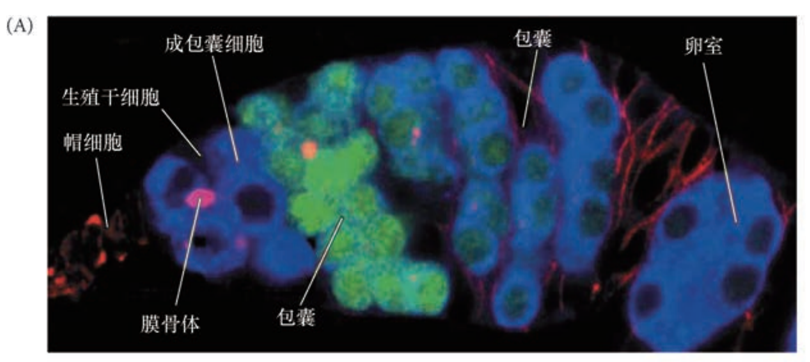
图 5.8　果蝇精巢干细胞微环境。(A) 顶端的聚集中心由大约 12 个精巢体细胞组成，并附着有 5 ～ 9 个生殖干细胞。生殖干细胞进行不对称分裂，产生另外一个生殖干细胞（继续附着在聚集中心的体细胞上）和一个精原母细胞，这个细胞分裂后产生一些精子前体（即精原细胞和减数分裂起始位置的精母细胞包囊）。(B) 插入到 *Unpaired* 基因的 β- 半乳糖苷酶报道基因显示 β- 半乳糖苷酶表达在聚集中心的体细胞。(C) 生殖系干细胞的分裂形式，其中一个中心体位于干细胞与体细胞附着点的皮质层细胞质，而另一个中心体移动到相对的位置。结果是一个细胞继续与聚集中心接触，另一个细胞脱离聚集中心进行分化（参考 Tulina and Matunis 2001，图由 E. Matunis 提供）。

因为这些细胞将旁分泌因子 Unpaired 分泌到与它们附着的干细胞。Unpaired 蛋白在相邻的生殖干细胞中激活 JAK-STAT 信号途径，特化它们的自我更新。远离这个旁分泌因子的细胞不能激活 JAK-STAT 信号途径，它们将分化成精子细胞谱系（Kiger et al. 2001；Tulina and Matunis 2001）。

从物理的角度来看，这种不对称分裂需要精子干细胞与体细胞之间的相互作用。在干细胞的分裂过程中，一个中心体一直处在干细胞和体细胞接触位点的皮质。而另一个中心体则移动到相对的位置，使有丝分裂纺锤体产生一个附着在聚集中心的子细胞和一个远离聚集中心的子细胞（Yamashita et al. 2003）。我们将会看到哺乳动物的神经干细胞在分裂时，中心体也有类似的定位。将聚集中心与干细胞连接在一起的细胞黏附分子有可能参与中心体在细胞接触位点的附着。因此，不对称的细胞分裂能导致干细胞的形成。

果蝇卵巢干细胞微环境　与精子类似，果蝇的卵母细胞也来自一个生殖干细胞。这些生殖干细胞被维持在卵巢干细胞微环境，而且，一些旁分泌因子的局部性分泌能影响干细胞的自我更新及浓度依赖性的卵母细胞分化。成体果蝇的卵母细胞的形成发生在至少 12 个卵管或**卵巢管**（**ovariole**），每个卵巢管都含有相同数量的生殖干细胞（通常是每个管里有两个）和一些体细胞类型，这些体细胞构建了称为**原卵区**（**germarium**）的干细胞微环境（Lin and Spradling 1993）。一个生殖干细胞分裂时，它既能自我更新，也能产生一个**成包囊细胞**（**cystoblast**）。像精子的精原母细胞一样，这个包囊细胞远离干细胞微环境时（超出微环境中调节信号的范围）开始成熟，并分化成一个被滤泡细胞环围的卵母细胞（图 5.9A；Eliazer and Buszczak 2011；Slaidina and Lehmann 2014）。

尽管这些生殖干细胞处在干细胞微环境，它们仍能与帽细胞相接触。当生殖干细胞垂直于帽细胞分裂时，一个子细胞通过上皮钙黏素继续与帽细胞接触并维持自我更新的特性，而另一个位移的子细胞开始向卵母细胞分化（Song and Xie 2002）。帽细胞通过分泌 TGF-β 家族的蛋白质来影响生殖干细胞，这些因子在生殖干细胞中激活骨形态发生蛋白的信号转导途径，



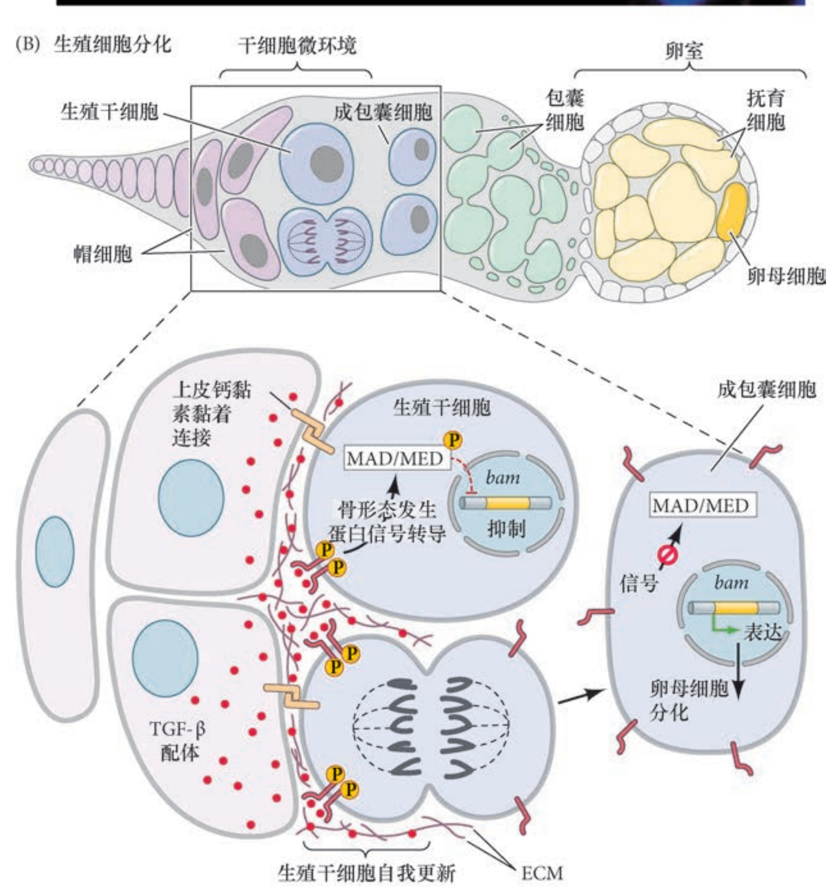


图 5.9　果蝇的卵巢干细胞微环境。(A) 果蝇原卵区不同细胞类型的免疫标记。生殖干细胞（GSC）用膜骨体染色。正在分化的干细胞（成包囊细胞）被蓝色染色。表达 Bam 的细胞（包囊）呈绿色。(B) 原卵区中帽细胞与生殖干细胞的相互作用。请见文本中描述的一些调节成分之间的互作（A 图来自 Slaidina and Lehmann 2014）。TGF-β：转化生长因子 -β；ECM：细胞外基质。

其结果是阻止生殖干细胞的分化（图 5.9B）。细胞外基质成分，如胶原蛋白和硫酸乙酰肝素蛋白聚糖，能限制 TGF-β 家族蛋白的扩散，以至于只有与帽细胞接触的生殖干细胞才能接收到足够量的 TGF-β 信号（Akiyama et al. 2008；Wang et al. 2008；Guo et al. 2009；Hayashi et al. 2009）[4]。骨形态发生蛋白信号转导途径在生殖干细胞中的激活阻止细胞分化，这个途径主要抑制一些促分化基因的转录，如 *bag of marbles*（*bam*）。当 *bam* 表达时，生殖干细胞将继续分化成卵母细胞（见图 5.9）。

综上所述，在果蝇的精巢和卵巢中，协调性的细胞分裂与黏附和旁分泌因子介导的分化抑制相结合参与控制生殖干细胞的自我更新和后代分化。一些关于生殖干细胞发育过程中表观遗传调节的新认知也开始涌现出来，例如，组蛋白甲基转移酶 Set1 对生殖干细胞的自我更新有必不可少的作用（Yan et al. 2014；见科学家讲座 5.2）。而且，很多在果蝇生殖干细胞中发挥作用的结构和机制因素在其他物种中也有类似的功能。例如，线虫生殖腺的远端顶细胞与果蝇的帽细胞很类似，因为它也提供调节线虫生殖干细胞的微环境信号（见第 8 章）。与果蝇生殖干细胞的微环境不同，线虫不使用 Unpaired 或骨形态发生蛋白；相反地，来自远端顶细胞的 Notch 信号被用于抑制生殖干细胞的分化。那些远离 Notch 信号范围的细胞将分化成生殖细胞（见 Spradling et al. 2011 对生殖干细胞的比较综述）。

科学家讲座 5.2 Norbert Perrimon 博士回答关于确定果蝇生殖干细胞自我更新的基因调控网络问题。

5.5 室管膜 - 室管膜下区的成体神经干细胞微环境

尽管在 1969 年首次报道了出生后的大鼠中有成体神经发生，之后在 1983 年也报道了鸣鸟的成体神经发生，但是关于"成体脑不能产生新神经元"学说的一直持续了几十年。然而，在 21 世纪之交，一系列的研究（主要是在成体哺乳动物的脑组织）开始对整个生命过程中有持续的神经发生这个观点予以有力的支持（Gage 2002）。对成体中枢神经系统中存在**神经干细胞**（**neural stem cell**，**NSC**）的认可标志着发育神经科学领域的一个激动人心的时刻，对了解脑发育和对神经障碍的治疗有重大的意义。

无论是在鱼类还是人类，成体神经干细胞[5]都保持了它们的胚胎祖细胞（即放射状胶质细胞）的细胞形态和分子特征。放射状胶质细胞和成体神经干细胞都是极性化的上皮细胞，贯穿中枢神经系统的整个顶基轴（Grandel and Brand 2013）。放射状胶质细胞的发育和成体哺乳动物神经干细胞微环境的胚胎来源将会在第 13 章予以详尽描述。在无羊膜动物，如硬骨鱼（硬骨鱼系），放射状胶质细胞在整个生命过程中都是神经干细胞，位于成体脑的很多（至少有 12 个）神经区域（Than-Trong and Bally-Cuif 2015）。但是，在成体哺乳动物，只在大脑的两个主要区域发现了神经干细胞（Faigle and Song 2013；Urbán and Guillemot 2014）：海马的**颗粒层下区**（**subgranular zone**，**SGZ**）和侧脑室的**室管膜 - 室管膜下区**（**ventricular-subventricular zone**，**V-SVZ**）。哺乳动物的这些神经微环境之间既有相似性也存在差异，每一种神经干细胞都具有放射状胶质来源的特征，然而只有室管膜 - 室管膜下区的神经干细胞与脑脊液保持接触。在室管膜 - 室管膜下区的发育过程中，放射状胶质样的神经干细胞过渡到 **B 型细胞**（**type B cell**），在嗅球和纹状体中促进特定神经元类型的形成，这在小鼠和人类都得到了证明（图 5.10；Curtis et al. 2012；Lim and Alvarez-Buylla 2014）。

网络话题 5.1 颗粒层下区微环境 深入研究哺乳动物脑的另一个神经干细胞微环境。

---

[4] TGF-β 的获得功能或缺失功能分别导致生殖干细胞群体的肿瘤样扩张或生殖干细胞的缺失（Xie and Spradling 1998）。

[5] 多数神经干细胞显示星形胶质细胞的特征，尽管也有一些例外。斑马鱼的端脑具有自我更新的神经上皮样细胞，作为神经祖细胞，但不表达典型的星形胶质细胞基因。关注一下 Michael Brand 实验室的工作以便对这些问题有更好的了解（Kaslin et al. 2009；Ganz et al. 2010；Ganz et al. 2012）。

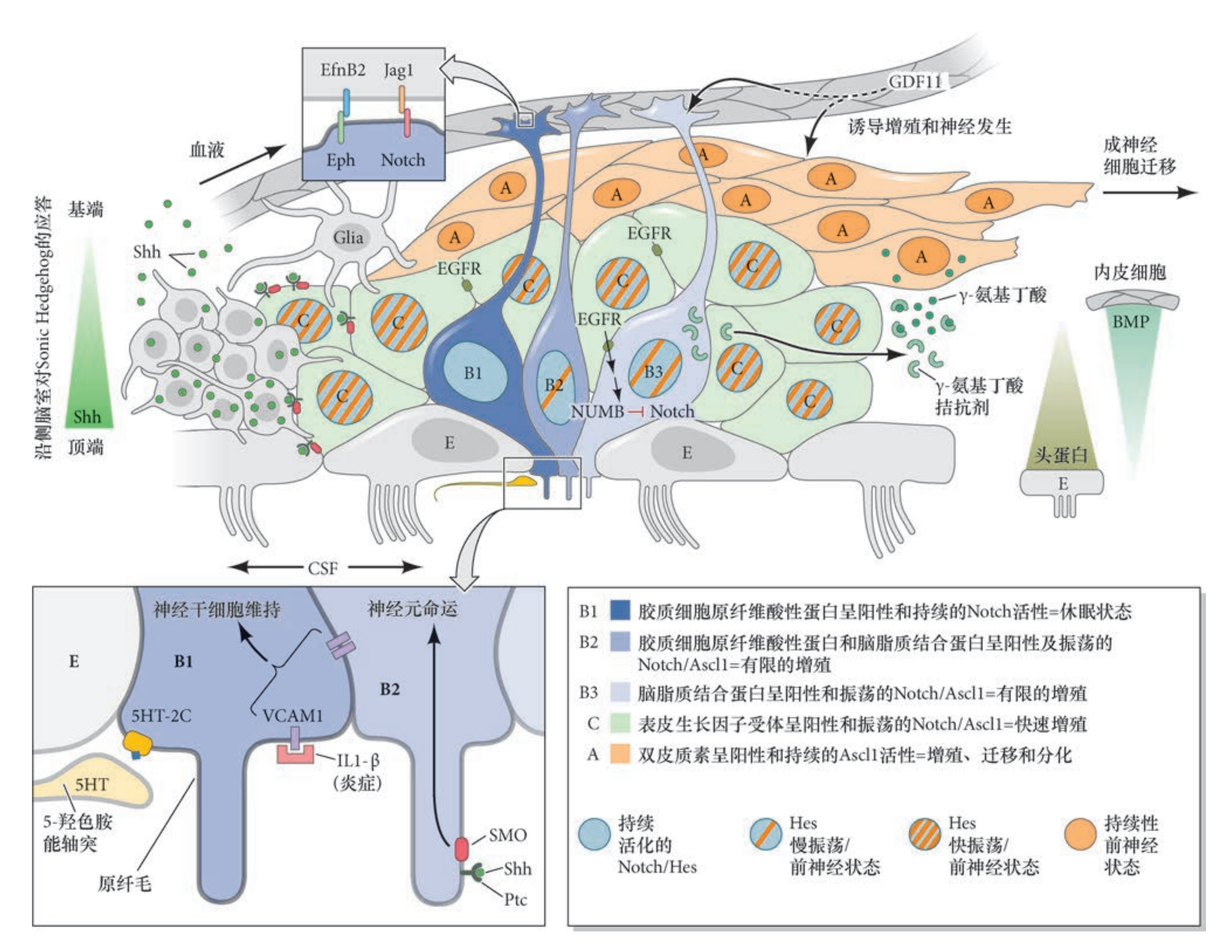


图 5.10　室管膜 - 室管膜下区（V-SVZ）干细胞微环境及其调控的图示。脑室内壁的多纤毛室管膜细胞（E；浅灰色）接触室管膜 - 室管膜下区的神经干细胞（蓝色）。典型的休眠性 B1 型神经干细胞（暗蓝色）产生有限增殖的活化 B2 型和 B3 型细胞（浅蓝色）。B3 型细胞产生 C 型细胞，而 C 型细胞经过三次分裂后产生迁移的成神经细胞（A 型细胞；橙色）。被 B 型细胞基部的突触小结部分围绕的上皮细胞血管侵入微环境。干细胞储备的维持受血管细胞黏附分子 -1 和 Notch 信号的调节（Notch 信号途径振荡的变化用不同的核颜色显示）。位于侧脑室腹部的成簇的神经元表达 Sonic Hedgehog（Shh），在微环境中影响神经元细胞分化。来自内皮细胞的骨形态发生蛋白和来自室管膜细胞的头蛋白相互拮抗，使这个梯度上的神经发生得以平衡。5- 羟色胺（5-HT）能轴突交织在脑室的表面，与来自脑脊液（CSL）的白细胞介素 1-β（IL1-β）和来自血液的生长分化因子 -11（GDF11）共同作为外界信号对微环境起调节作用。一些非微环境的神经元、星形胶质细胞和神经胶质，也能在微环境中存在并能影响微环境的调节。EfnB2：肝配蛋白 -B2；Eph：肝配蛋白受体；Glia：神经胶质；EGFR：表皮生长因子受体；GDF11：生长分化因子 -11；BMP：骨形态发生蛋白；CSF：脑脊液；5HT-2C：5- 羟色胺 -2C；VCAM1：血管细胞黏附分子 -1；IL1-β：白细胞介素 1-β；5HT：5- 羟色胺（基于多种来源，包括 Basak et al. 2012；Giachino et al. 2014；Lim and Alvarez-Buylla 2014；Ottone et al. 2014）。

5.5.1　室管膜 - 室管膜下区神经干细胞微环境

在室管膜 - 室管膜下区，B 型细胞从它们的顶端延伸出一个原纤毛（见第 4 章）至脑室腔的脑脊液，另有一个长的基部突触，在末端形成突触小结，与血管紧密接触（类似于参与血脑屏障的星形胶质细胞突触小结）。室管膜 - 室管膜下区的基本细胞成分有 4 种：①沿脑室壁分布的一层室管膜细胞，即 E 型细胞；②称为 B 型细胞的神经干细胞；③祖细胞（过渡性扩增细胞），即 C 型细胞；④迁移的成神经细胞，即 A 型细胞（见图 5.10）。一些小簇的 B 型细胞被一些多纤毛的 E 型细胞围绕，形成一个风车状的玫瑰

花团结构（图 5.11A；Mirzadeh et al. 2008）。室管膜 - 室管膜下区的细胞增殖首先发生在它的中央核心位置，一个分裂的 B 型细胞直接产生一个 C 型细胞。这些 C 型祖细胞继续增殖并发育成 A 型神经前体细胞，而这些前体细胞进入嗅球后完成终末神经元分化（见图 5.10）。基于它们的增殖状态差异，并且这些差异与不同放射状胶质细胞中的基因表达图式相关（Codega et al. 2014；Giachino et al. 2014），B 型细胞可以被再分成三个亚型（B1、B2 和 B3）。值得注意的是，在神经干细胞微环境中，B1 型细胞处于休眠状态或无活性，而 B2 型和 B3 型细胞是活跃增殖的神经干细胞（Basak et al. 2012）[6]。

科学家讲座 5.3　Arturo Alvarez-Buylla 博士描述室管膜 - 室管膜下区成体神经干细胞微环境。

5.5.2　细胞之间的相互作用维持神经干细胞储备

维持干细胞储备是任何干细胞微环境的重要职责，因为过多的分化性和产生祖细胞的对称分裂会减少干细胞的储备。室管膜 - 室管膜下区微环境在结构上的设计及信号系统的配置都能保证 B 型细胞在神经生长和应答损伤的修复过程中不至于丢失。

血管细胞黏附分子 -1 及与玫瑰花团微环境的黏附　玫瑰花团或风车状结构是室管膜 - 室管膜下区微环境的一个显著物理特征。这个结构至少在一定程度上受血管细胞黏附分子 -1 维持（Kokovay et al. 2012）。玫瑰花团结构并不是神经干细胞微环境的专有结构，它也是整个胚胎发育过程中的重复性结构元件（Harding et al. 2014）。但是，尽管早期发育只是过渡性地使用玫瑰花团结构，室管膜 - 室管膜下区的风车状结构在整个生命过程中一直维持下来。随着哺乳动物脑的老化，风车状结构的数量及其中的神经干细胞数量都会减少，这与生命后期神经形成潜能的降低相关（Mirzadeh et al. 2008；Mirzadeh et al. 2010；Sanai et al. 2011；Shoo et al. 2012；Shook et al. 2014）。很像美国足球的一些队员围聚着一个四分卫球员，室管膜细胞也围聚着 B 型细胞；然而，与行使指挥作用的四分卫球员不一样，B 型细胞听从室管膜细胞（或其他微环境信号）的指令，维持休眠状态或变成活化状态。与室管膜细胞密切连接的 B 型细胞是处在高度休眠状态的 B1 型细胞。相对比较松散聚集的 B 型细胞是活跃增殖的 B2 型和 B3 型细胞（Doetsch et al. 1997）。用实验的方法抑制血管细胞黏附分子 -1（一个特异定位在 B 型细胞顶端突触的黏附蛋白）能干扰风车状图式，引起神经干细胞的休眠，同时也会促进祖细胞的分化（图 5.11B；Kokovay et al. 2012）。因此，聚集得越紧密，干细胞的休眠程度就越大。

Notch 是分化的时钟　有证据证明 Notch 信号对维持 B 型干细胞的储备有重要作用（Pierfelice et al. 2011；Giachino and Taylor 2014）。Notch 家族成员是一些跨膜受体，通过细胞之间的相互作用，Notch 的细胞内结构域（NICD）被切割后作为一个转录因子复合物的一部分发挥功能，而这个复合物通常对前神经基因的表达有抑制作用（见图 5.10 和第 4 章）。高水平的 NICD 活性支持干细胞的休眠状态，而低水平的 Notch 信号途径活性促进祖细胞的增殖，并使祖细胞向神经命运成熟[7]。NICD 在室管膜 - 室管膜下区微环境的 B1 型细胞中的活性比它在其他细胞中的活性要高。NICD 和其他转录因子共同抑制增殖和分化相关基因的表达，促进休眠状态和维持神经干细胞的数量（Ables et al. 2011；Pierfelice et al. 2011；Giachino and Taylor 2014；Urbán and Guillemot 2014）。

Notch1 蛋白表达在室管膜 - 室管膜下区微环境的所有细胞，包括 B 型细胞、祖细胞（过渡性扩增细胞）、A 型迁移性成神经细胞（Basak et al. 2012）。这就产生了一个问题：在有 Notch 的情况下细胞如何进行分化？在神经发生过程中，Notch 调节机制的一个重要部分是下游的转录靶点，即 *Hairy* 和 *Enhancer of*

---

[6] 在小鼠的室管膜 - 室管膜下区，一个 B 型细胞可以产生 16 ～ 32 个 A 型细胞：一个 B 型细胞产生的每个 C 型细胞将分裂三次，并且它们的 A 型细胞后代一般只分裂一次，产生 16 个细胞，但也可能会分裂两次，这样就产生了 32 个细胞（Ponti et al. 2013）。

[7] Notch 信号在成体脑神经发生中的很多作用都与它在胚胎脑中调节放射状胶质细胞的作用相类似，但是也开始发现有一些重要的差异。关于 Notch 信号在胚胎相对于成体的神经发生及在不同物种之间的比较，请见 Pierfelice et al. 2011 和 Grandel and Brand 2013。

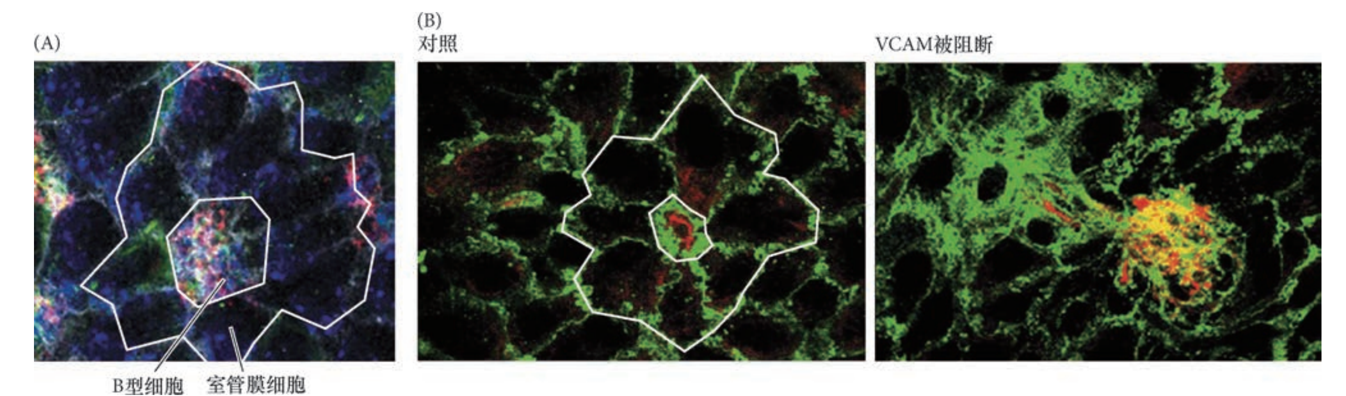


图 5.11　血管细胞黏附分子 -1（VCAM1）与风车状结构。（A）膜标记显示室管膜 - 室管膜下区神经干细胞微环境中细胞的风车状排列。血管细胞黏附分子 -1 的免疫标记（红色）显示它在风车中心的 B 型细胞中与胶质细胞原纤维酸性蛋白（绿色）共定位。蓝色标记显示 β- 联蛋白；白线绘出风车状结构的轮廓。（B）用血管细胞黏附分子 -1（VCAM1）的抗体阻断细胞黏附后干扰 B 型细胞和室管膜细胞的风车状结构。在这些图中，红色显示胶质细胞原纤维酸性蛋白（GFAP），绿色代表 β- 联蛋白（参考 Kokovay et al. 2012）。

拓展性问题

我们知道很多关于 Notch/Delta 及 Hes 基因在胚胎发育过程中的振荡表达。这些基因在成体神经干细胞微环境的振荡是怎样的？这些振荡如何产生从干细胞到神经元的分化？

Split（*Hes*）相关基因。*Hes* 基因主要对前神经基因的表达有抑制作用。我们在第 17 章会看到，Notch-Delta 信号及它们的 *Hes* 靶点呈现短暂性的基因表达振荡图式，这是通过负反馈环的调节来完成的，即 Notch 使 *Hes* 上调后引起 Hes 对 *Notch* 表达的抑制。一个被逐渐接受的假说是，持续的 Notch 信号活性促进休眠状态，而 *Hes* 基因的振荡表达及一些前神经基因（如 *Ascl1*/*Mash1*）的抗振荡周期作用支持增殖状态，直到前神经基因的表达得以维持，细胞开始分化（见图 5.10；Imayoshi et al. 2013）。

5.5.3　促进室管膜 - 室管膜下区微环境的分化

干细胞微环境的主要目的是产生向特定细胞类型分化的祖细胞。室管膜 - 室管膜下区微环境有多种因子参与这个过程。

表皮生长因子抑制 Notch　如上所述，活化的（以及持续性的）Notch 信号促进休眠和抑制分化，因此，促进神经发生的一个机制就是降低（以及振荡）Notch 的活性。C 型祖细胞通过表皮生长因子受体（EGFR）的信号促使分化，这个信号上调 NUMB，而 NUMB 再抑制 NICD（见图 5.10；Aguirre et al. 2010）。所以，表皮生长因子信号通过抗衡 Notch 信号，使用干细胞储备进行神经发生（McGill and McGlade 2003；Kuo et al. 2006；Aguirre et al. 2010）。

骨形态发生蛋白和神经干细胞微环境　其他一些因子也参与干细胞的进一步分化，如骨形态发生蛋白信号在室管膜 - 室管膜下区，以及哺乳动物脑的其他区域促进胶质细胞的形成（Lim et al. 2000；Colak et al. 2008；Gajera et al. 2010；Morell et al. 2015）。源于内皮细胞的骨形态发生蛋白信号在微环境的基部保持较高的强度，而位于顶端的室管膜细胞分泌骨形态发生蛋白的拮抗剂——头蛋白，使骨形态发生蛋白信号在这个区域的强度变低。因此，当 B3 型细胞转变成 C 型祖细胞，然后移动到紧邻微环境的基部时，它们就会远离骨形态发生蛋白拮抗剂的作用范围，接收高水平的骨形态发生蛋白信号，这个信号偏向于促进神经胶质细胞的神经发生（见图 5.10）。

5.5.4　环境因素对神经干细胞微环境的影响

成体神经干细胞微环境必须对生物体的一些变化做出反应，如创伤和炎症、运动及昼夜节律的变

化。神经干细胞微环境如何应答这些变化？脑脊液（CSF）、神经网络及脉管系统直接与微环境接触，它们通过来自脑脊液的旁分泌因子、来自脑的电生理活动及循环系统输送的内分泌信号影响神经干细胞的行为。

神经活动 在微环境中，迁移的神经细胞前体分泌神经递质 γ- 氨基丁酸，对子细胞产生负反馈调节，降低它们的增殖速度。与这个作用相反，B 型细胞分泌 γ- 氨基丁酸的竞争性抑制物（diazepam-binding inhibitor protein，安定结合抑制物蛋白），在微环境中促进细胞增殖（Alfonso et al. 2012）。目前已经发现一些外源信号输入来自与室管膜细胞和 B 型细胞密切接触的 5- 羟色胺能轴突（Tong et al. 2014）。B 型细胞表达 5- 羟色胺受体，在 B1 型细胞中激活或抑制 5- 羟色胺信号途径分别增高或降低室管膜 - 室管膜下区的细胞增殖（见图 5.10）。来自多巴胺能神经元和微环境的一些胆碱乙酰转移酶神经元的神经活动也能促进增殖和神经发生（见 Lim and Alvarez-Buylla 2014 中引用的参考文献）。

Sonic hedgehog 信号与干细胞微环境 与胚胎神经管的图式化类似（我们将在第 13 章予以描述），室管膜 - 室管膜下区产生的各种神经元细胞类型在一定程度上受微环境顶 - 基轴方向的 Sonic hedgehog（Shh）梯度影响，而 Shh 在顶端的浓度最高[8]（Goodrich et al. 1997；Bai et al. 2002；Ihrie et al. 2011）。当 *Shh* 基因被敲除后，Shh 信号的缺失导致顶端来源的嗅觉神经元特异性地减少（Ihrie et al. 2011）。这个结果暗示，基于 Shh 信号强度的差异，源于微环境顶端神经干细胞簇的细胞与源于更基端神经干细胞簇的细胞有不同的神经元命运（见图 5.10）。

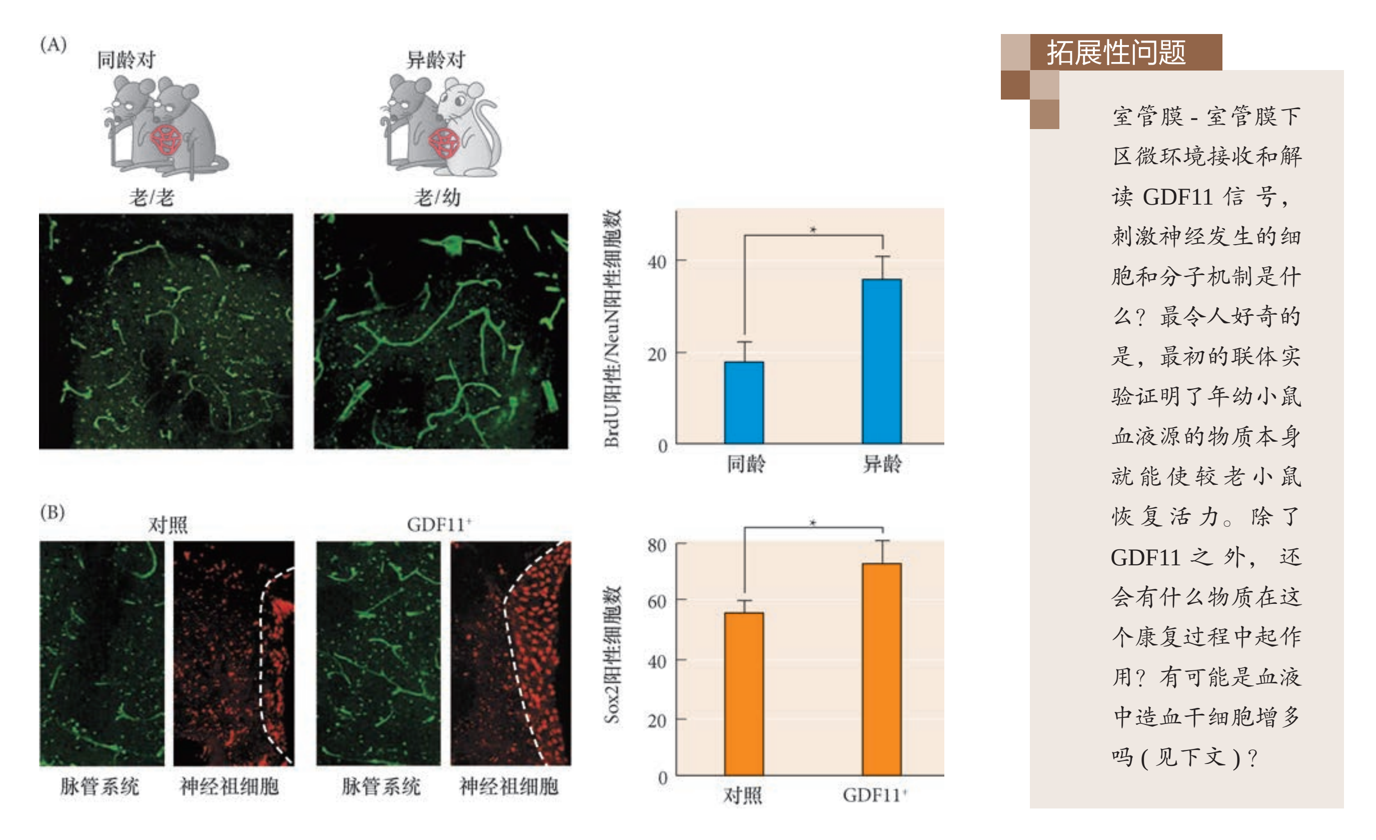
脉管系统的信息传递 脑中神经干细胞活性的另一个外源影响来自侵入干细胞微环境的脉管系统：来自血管的细胞（内皮细胞、平滑肌细胞、周细胞）、来自与这些细胞附着的细胞外基质，以及来自血液的一些物质（Licht and Keshet 2015；Ottone and Parrinello 2015）。尽管 B 型细胞的顶部和细胞体远离血管，但它们的基部突触小结却与脉管系统紧密接触（见图 5.10）。这个物理特征使得血管细胞能与神经干细胞直接接触。我们早就讨论过，Notch 信号对控制 B 型细胞的休眠状态很重要。B 型细胞的突触小结上的 Notch 受体结合内皮细胞上的 Jagged1（Jag1）跨膜蛋白，导致 Notch 被加工成 NICD 转录因子，这样就使 B1 型细胞的休眠状态得以维持（Ottone et al. 2014）。当 B2 型和 B3 型细胞转变成 C 型祖细胞时，它们的基部便失去与内皮细胞的连接，结果是 NICD 减少，祖细胞开始成熟。

血液内的物质必须穿过紧密的血脑屏障才能影响神经发生。在血液中使用荧光示踪复合物证明，神经干细胞微环境处的血脑屏障与脑其他区域相比存在“漏洞”（见图 5.10；Tavazoie et al. 2008）。多种影响成体神经干细胞的血源性物质已经被鉴别出来，其中一个很有趣的分子是生长分化因子 -11（GDF11，也称为 BMP11），该蛋白质可能有抵御一些脑衰老症状的功能。与人类相似，较老的小鼠呈现出显著降低的神经发生潜能。利用手术将一个年幼小鼠的循环系统与一个较老小鼠的循环系统进行连接后（异龄联体），研究人员意识到年幼小鼠的循环系统的某种物质能阻止神经发生潜能的降低。这种联体手术使得较老小鼠脑的脉管系统增多（**图 5.12A**），并伴随着修复神经发生的神经干细胞的增殖和认知功能的提高（Katsimpardi et al. 2014）。研究人员后来证明，用一个单一的循环因子，即 GDF11，同样可以修复较老小鼠的神经发生潜能；而且，已经证明 GDF11 的水平随年龄而降低[9]（**图 5.12B**；Loffredo et al. 2013；Poggioli et al. 2015）。这些结果充分说明，神经干细胞与周围脉管系统之间的信息传递是成体脑神经发生的主要调节机制，这个信息的传递随时间的变化可能会引起一些与衰老相关的认知缺陷。

---

[8] 更确切地说，Shh 在脑中的梯度应该是沿脑的背 - 腹轴方向；但是为了简化，我们的描述将这个梯度局限在顶 - 基轴方向。

[9] 一个新近的研究（Egerman et al. 2015）报道 GDF11 的水平并不随年龄而降低。并且，尽管有研究声称 GDF11 具有使肌肉恢复活性的能力（Sinha et al. 2014），同一研究也声明 GDF11 与肌生成抑制蛋白一样能抑制肌肉生长。但是，GDF11 随年龄的降低最近已被证实（Poggioli et al. 2015），并且，Egerman 及其同事也从来没有对 GDF11 在神经发生中的作用提出异议。



拓展性问题

室管膜 - 室管膜下区微环境接收和解读 GDF11 信号，刺激神经发生的细胞和分子机制是什么？最令人好奇的是，最初的联体实验证明了年幼小鼠血液源的物质本身就能使较老小鼠恢复活力。除了 GDF11 之外，还会有什么物质在这个康复过程中起作用？有可能是血液中造血干细胞增多吗（见下文）？

图 5.12　年幼小鼠的血液使较老小鼠恢复活力。(A) 将相似（同龄）或不同（异龄）年龄的两个个体的循环系统融合后得到联体。一个较老小鼠与一个年幼小鼠进行联体时，较老小鼠的脉管系统（图中绿色标记）和增殖性神经细胞增多。(B) 在较老小鼠的循环系统中给予生长分化因子 -11（GDF11），同样能在室管膜 - 室管膜下区增加脉管系统（绿色）和神经祖细胞群体（白色虚线勾画的红色细胞群体及图表中 SOX2 阳性细胞的量化）（参考 Katsimpardi et al. 2014）。

5.6　成体的肠干细胞微环境

如上所述，神经干细胞是一个特殊上皮的一部分。但是，并非所有的上皮干细胞都一样。哺乳动物的肠上皮构成一个显著不同的干细胞微环境。肠上皮壁向肠道延伸出数百万用于吸收营养的指状绒毛，每个绒毛的基部都陷入**肠隐窝**（**crypt**），这是一个将邻近绒毛连接在一起的峭沟（**图 5.13A**）。理解肠干细胞（ISC）微环境演变功能的关键是领会肠道快速的细胞周转。

5.6.1　肠隐窝中的克隆性更新

细胞增殖出现在肠隐窝，而细胞丢失主要发生在绒毛的顶部。通过这种由细胞源到细胞脱落的向上运动，肠道的吸收细胞每 2 ～ 3 天发生一次周转[10]（Darwich et al. 2014）。

小鼠的每个小肠隐窝的基部都有一些干细胞，部分子细胞作为干细胞一直保留在隐窝内，而其他子细胞则变成祖细胞并迅速分裂（**图 5.13B**；Lander et al. 2012；Barker 2014；Krausova and Korinek 2014；Koo and Clevers 2014）。隐窝内干细胞和祖细胞的分裂使细胞在隐窝处向绒毛位置垂直向上位移，随着这些细胞的位置远离隐窝基部，它们开始逐渐分化成具有肠上皮特征的一些细胞，如肠上皮细胞、杯形细胞、肠内分泌细胞。到达肠绒毛顶端后，这些细胞就会脱落并经历**脱落凋亡**（**anoikis**），这是一种因缺失附着而引起的程序性细胞死亡（细胞凋亡），在这种情况下，细胞因为缺失了与其他绒毛上皮细胞及细胞外基

[10] 这是来自 6 个物种的元分析而得出的结论，这些物种包括小鼠和人。

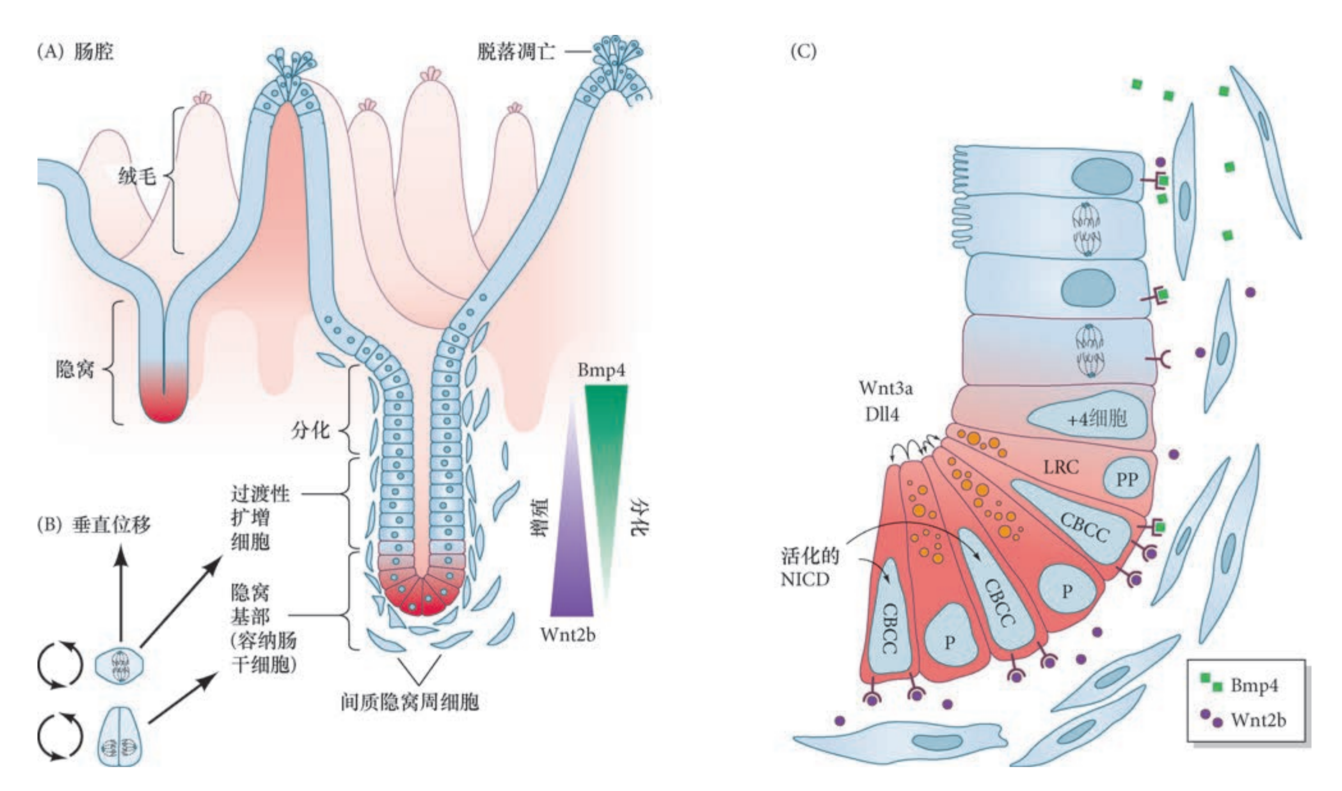


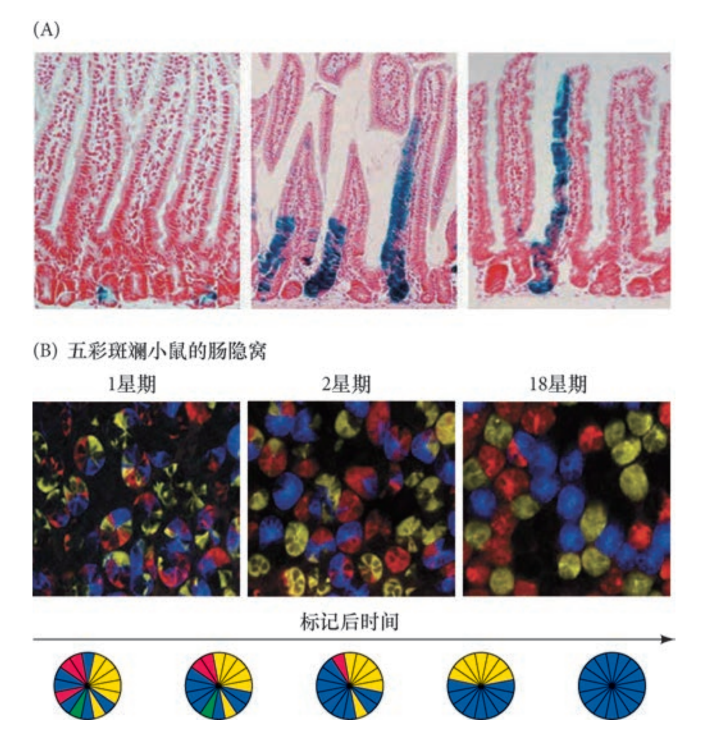
图 5.13 肠干细胞微环境及调节物。(A) 肠上皮由伸向肠道的长指状绒毛组成，伸进深穴的上皮称为隐窝。肠干细胞和祖细胞位于隐窝的最底部（红色），通过脱落凋亡的细胞死亡发生在绒毛的顶端。(B) 沿近 - 远轴方向（隐窝到绒毛方向），隐窝上皮可以在功能上分为三个区域：隐窝基部容纳肠干细胞，增殖区由过渡性扩增细胞组成，分化区的特征是上皮细胞类型在这个位置成熟。隐窝周的间质细胞环围隐窝的基部表面，分泌反向的 Wnt2b 和骨形态发生蛋白 -4(Bmp4) 形态发生素梯度，分别调节细胞的干性和分化。(C) 隐窝基部细胞的高倍放大。帕内特细胞 (P) 分泌 Wnt3a 和 Dll4，在一定程度上通过激活 Notch 的细胞内结构域 (NICD) 刺激富含亮氨酸重复基序的 G 蛋白偶联受体 -5(Lrg5) 阳性细胞和隐窝基部柱状细胞 (CBCC) 的增殖。Dll4：Notch 的 Dll4 配体；LRC：滞留标记细胞；PP：帕内特祖细胞。

质的接触而凋亡（见图 5.13A）[11]。

细胞谱系示踪研究 (Barker et al. 2007；Snippert et al. 2010；Sato et al. 2011) 证明，肠干细胞（表达 Lgr5 蛋白，即富含亮氨酸重复基序的 G 蛋白偶联受体 -5) 能产生肠上皮的所有分化细胞。由于它们处在隐窝最基部的特定位置，这些 Lgr5 阳性细胞被称为隐窝基部柱状细胞 (CBCC)，而且与同样只存在于隐窝基部的帕内特细胞形成一个象棋的棋盘图式（**图 5.13C**；Sato et al. 2011)。证明隐窝基部柱状细胞代表“活跃干细胞”的最有力证据之一是，一个独立的隐窝基部柱状细胞能逐渐地完全填充整个隐窝（**图 5.14**；Snippert et al. 2010)。隐窝基部柱状细胞进行对称分裂后，一个子细胞将会（偶然地）处在帕内特细胞邻近的位置，而另一个子细胞从基部被排斥出去，向过渡性扩增（祖细胞）的命运发育。以这种方式，对于帕内特细胞表面的中立竞争确定了哪个细胞继续作为干细胞，哪个细胞将继续分化 (Klein and Simons 2011)。

为什么一个肠干细胞的寿命会被偶然的方式所决定？肠隐窝的这种不利于“最适宜的”干细胞存活好像是一个完全违背达尔文方式的做法，你同意吗？考虑一下是什么因素能使一个肠干细胞更“适宜”地存活。这可能需要有较高的增殖能力，尤其是在像肠上皮这种细胞快速周转的组织；然而，与之相悖的是，快速增殖也是肿瘤发生和癌变的起因。目前的一个观点是，通过“中立漂移”的肠干细胞进化促进了取决于细胞位置而不是基因表达的隐窝基部柱状细胞的随机滞留。这种随机滞留有可能会降低对

[11] 这个过程与水螅的生长很相似，其中每个细胞都在动物的基部产生，然后通过迁移变成了分化的躯体的一部分，最后从臂尖上脱落（见第 22 章）。



拓展性问题

隐窝中是否有一个真正的休眠干细胞？对于这个问题还有激烈的争论。利用转基因技术，基于诱导而表达出来的细胞示踪物在一个细胞中的滞留时间来研究隐窝基部的各种细胞群体，为确定休眠干细胞提供了更好的条件。Buczacki 及其同事发现，表达 Lrg5 的一部分隐窝细胞能使示踪物滞留几个星期 (Buczacki et al. 2013)。所以，这些滞留标记的细胞是不是休眠状态的干细胞储备群体？注意一下 Hans Clevers 对这个工作的评论；也看一下最近的活体成像 (Ritsma et al. 2014)，自己去仔细思考这些问题。

图 5.14　肠干细胞微环境的成克隆特性。(A) 使用 Lrg5 启动子和 Rosa-LacZ 报道基因在携带 Cre 重组酶的转基因小鼠中标记隐窝基部肠干细胞的离散克隆（蓝色）。随着时间的推移，LacZ 在后代细胞的滞留显示它们逐渐向绒毛位置移动。(B) 用转基因“五彩斑斓”小鼠镶嵌式标记肠隐窝干细胞显示，随着时间的推移，出现一个随机的（可预计的随机性）向一些单克隆（用一种颜色标记）隐窝演变的过程。同样的演变可以通过数学建模和模拟，产生一个类似颜色图式的粗化，如照片下部的图所示 (A 图来自 Barker et al. 2007；B 图参考 Snippert et al. 2010；Klein and Simons 2011)。

一些“有利”突变进行选择的概率，而这些突变也有可能导致癌症 (Kang and Shibata 2013；Walther and Graham 2014)。

5.6.2　隐窝中的调节机制

帕内特细胞在肠的免疫应答中起一个重要的作用，因为这是一种分泌性细胞，含有很多释放抗菌物质的颗粒。另外，接近 80% 的肠干细胞的表面都与帕内特细胞直接接触，所以这种细胞对干细胞的调节有重要贡献。每个微环境中含有大约 15 个帕内特细胞和相同数量的隐窝基部柱状细胞。剔除帕内特细胞会破坏干细胞产生其他细胞的能力。帕内特细胞表达多种旁分泌和近分泌因子，包括但不局限于 Wnt3a 和 Delta-like 4(Dll4)，而 Dll4 是一个 Notch 激活物 (Sato et al. 2009；Barker 2014；Krausova and Korinek 2014)。在肠干细胞中，当 Dll4 与 Notch 受体结合时，它就被解读成持续性增殖和向分泌性而不是吸收性细胞命运谱系特化的信号（见图 5.13C；Fre et al. 2011；Pellegrinet et al. 2011）。

上皮下部的间质细胞也参与调节肠干细胞微环境。它们在隐窝基部分泌高水平的 Wnt2b，而一个反向的骨形态发生蛋白 -4 梯度在隐窝顶部的浓度最高（见图 5.13C）。隐窝基部柱状细胞表达 Wnt2b 的受体 Frizzled7 和骨形态发生蛋白 -4 的受体 BMPR1a，所以它们能受到这两种因子的影响 (He et al. 2004；Farin et al. 2012；Flanagan et al. 2015)。目前人们接受的模型是，Wnt 信号促进隐窝基部柱状细胞和祖细胞的存活与增殖，而反向的骨形态发生蛋白信号在隐窝中促进分化，使细胞向绒毛成熟 (Carulli et al. 2014；Krausova and Korinek 2014)。

还有另外一个小群体的肠干细胞，由于它们的位置紧邻隐窝基部第 4 个帕内特细胞，所以被称为 +4 细胞（见图 5.13C；Potten et al. 1978；Potten et al. 2002；Clevers 2013）。与隐窝基部柱状细胞一样，+4 细胞能产生肠的所有细胞类型。有一些报道显示 +4 细胞比隐窝基部柱状细胞分裂慢，这说明 +4 细胞对肠

的稳态有重要作用；但也有很多关于这种细胞是否代表微环境中休眠干细胞的争论（Carulli 2014）。

科学家讲座 5.4 肠干细胞微环境与肺干细胞微环境之间有一些相似之处。Brigid Hogan 博士讲述关于干细胞在肺发育和疾病中的作用。

5.7 干细胞补充成体血液的多种细胞谱系

5.7.1 造血干细胞微环境

每天，你的血液里有 1000 多亿个细胞会被新的细胞替换。无论身体所需要的细胞类型是用于气体交换还是用于免疫，**造血干细胞**（**hematopoietic stem，HSC**）都处在细胞谱系的最高层次，驱动造血干细胞微环境这个令人惊奇的细胞制造机器（见图 18.24）。鉴于造血干细胞对生物体的作用及它们的发现史，怎么强调这些细胞的重要性都不为过分。在 20 世纪 50 年代后期，通过骨髓移植[12]，使用造血干细胞的干细胞疗法被用于治疗血液系统疾病。另外，一个干细胞处在并且受控于一个特殊微环境的“微环境假说”最初也是受造血干细胞的启发而被提出来的（Schofield 1978）。

骨髓移植的成功无疑证明了造血干细胞的位置，即骨髓所在的骨腔（图 5.15）。在高度血管化的骨髓组织，造血干细胞紧邻骨骼细胞（骨细胞）、血管壁的内皮细胞及结缔组织间质细胞。是不是造血干细胞以某种方式在骨中产生，然后在骨髓中存储？对于这个问题的答案是：否。原始血细胞的发生首先出现在卵黄囊，但是“终末造血干细胞”出现在动脉 - 生殖腺 - 中肾区（AGM）发育过程中的动脉部分。通过已经形成的脉管系统，造血干细胞迁移到胚胎的肝，然后迅速增殖并开始产生造血谱系的后代（Mikkola and Orkin 2006；Al-Drees et al. 2015；Boulais and Frenette 2015）。在此期间，骨开始成形并被血管化，这就为造血干细胞进入骨髓建立了路径。造血干细胞通过循环系统迁移并找到它们的特异性组织目的地这一非凡的能力称为**归巢**（**homing**）。通过表面的 CXCL4 受体感知成骨细胞和骨髓间质细胞表达的 CXCL12 趋化因子（也称为间质细胞衍生因子 -1，SDF1），造血干细胞识别作为它们植入环境的骨髓（Moll and Ransohoff 2010）。各种黏着蛋白，如 E- 选择素（E-selectins）和血管细胞黏附分子 -1（VCAM1），也能帮助造血干细胞向微环境归巢（Al-Drees et al. 2015）。

造血微环境可以被细分为两个区域，即骨内膜（endosteal）微环境和血管周（perivascular）[13] 微环境（见图 5.15）。骨内膜微环境中的造血干细胞通常与骨内表面的成骨细胞直接接触，而血管周微环境中的造血干细胞与血管壁或血管周围的细胞（内皮细胞和间质细胞）密切接触。这两种微环境中不同的物理和细胞特性产生了造血干细胞的不同调节方式（Wilson et al. 2007）。另外，在这些微环境中也有两个亚群的造血干细胞：一组细胞能应答即刻需求，进行快速分裂；而另一种休眠状态的细胞作为储备，具有更大的自我更新潜能（Wilson et al. 2008，2009）。取决于生理状态，一个亚群的干细胞可以变成另一个亚群。

5.7.2 骨内膜微环境的调节机制

骨内膜的造血干细胞一般是最为静态的群体，具有长期自我更新的能力，以维持整个生命过程中的干细胞储备（Wilson et al. 2007）。与之相反，血管周微环境的造血干细胞处于更活跃的状态，有更快速的更新周期，能在短时间内支持祖细胞的发育（见图 5.15）。由细胞黏附分子、旁分泌因子、细胞外基质成分、激素信号、来自血管的压力变化及交感神经信号输入形成的一个复杂组合影响造血干细胞的增殖状

---

[12] 首例成功的骨髓移植是在两个同卵双胞胎之间实现的，其中一个患有白血病。E. Donnall Thomas 博士实施了这个移植手术。他在干细胞移植领域持续的研究成果使他获得了 1990 年的诺贝尔生理学或医学奖。

[13] *Peri* 在拉丁语中的意思是“在周围”。*Perivascular* 指的是位于血管外围的细胞。血管周微环境也称为血管微环境，骨内膜微环境也称为成骨细胞微环境。

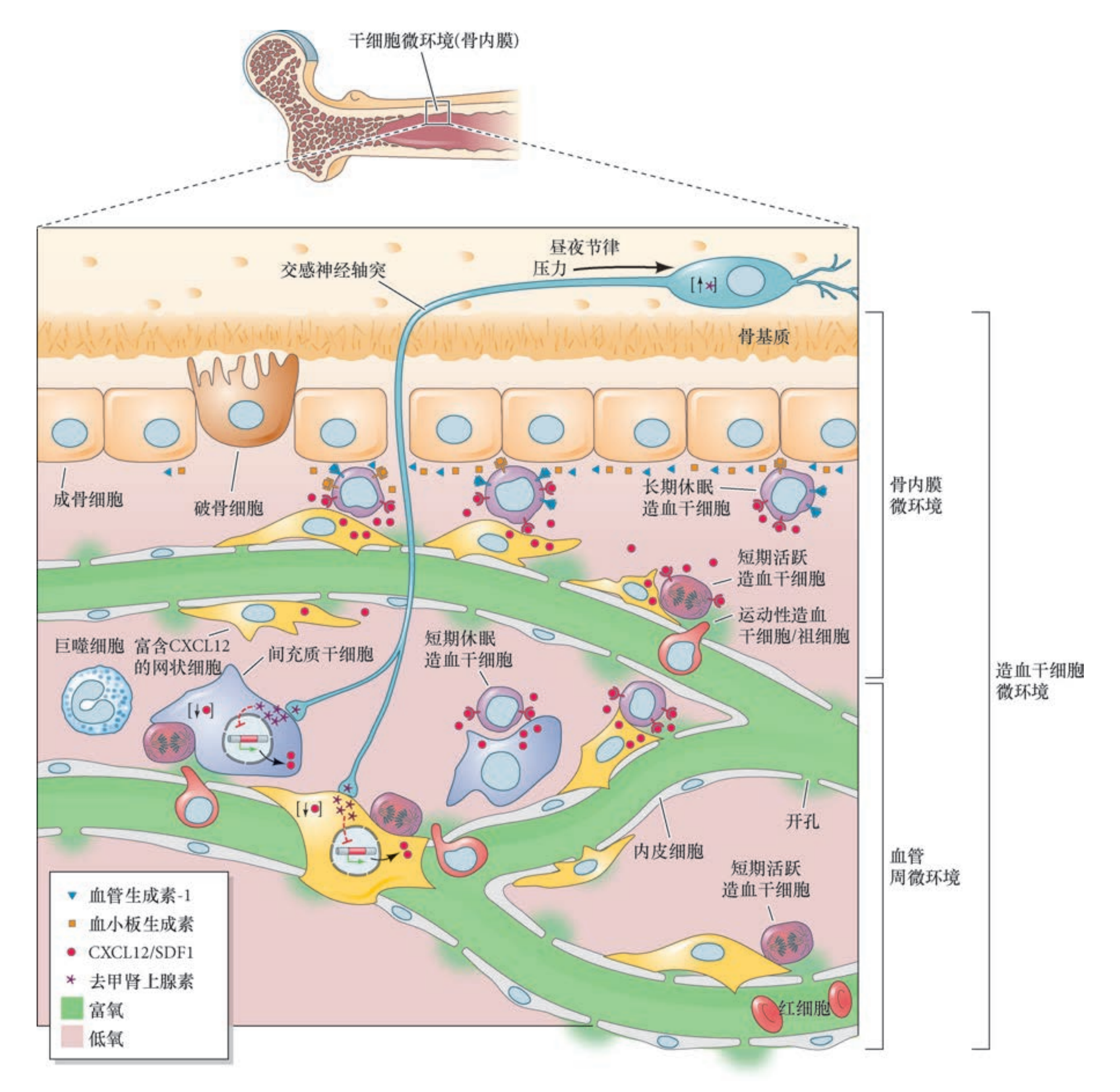
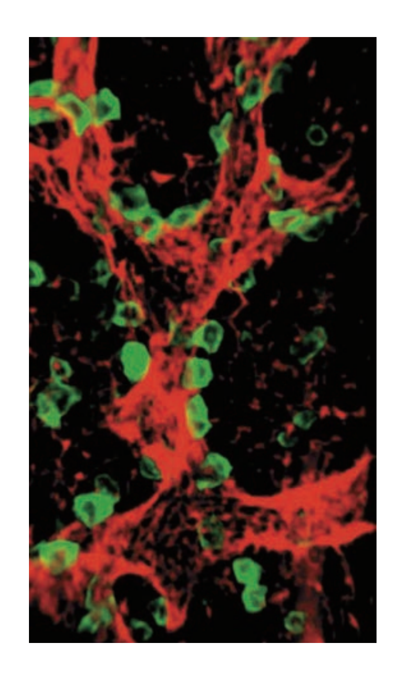


图 5.15　成体造血干细胞微环境的模型。位于骨髓内的造血干细胞微环境可以被分成两个亚环境：骨内膜微环境和血管周微环境。在骨内膜微环境中，与成骨细胞黏附的造血干细胞是长期造血干细胞（紫色），主要处于休眠状态，而短期活跃的造血干细胞（红色）与血管（绿色）在富氧孔处接触。间质细胞，也就是富含 CXCL12 的网状细胞（黄色）和间充质细胞，与流动性的造血干细胞和祖细胞直接相互作用，这些作用受交感神经连接的刺激。CXCL12/SDF1：CXCL12/ 间质细胞衍生因子 -1。

态（Spiegel et al. 2008；Malhotra and Kincade 2009；Cullen et al. 2014）。

在骨内膜微环境中，造血干细胞与成骨细胞紧密相互作用。控制成骨细胞的数量同样也会增加或减少造血干细胞的数量（Zhang et al. 2003；Visnjic et al. 2004；Lo Celso et al. 2009；Al-Drees et al. 2015；Boulais and Frenette 2015）。而且，成骨细胞通过与造血干细胞结合并分泌血管生成素 -1 和血小板生成素，促进造血干细胞的休眠，使干细胞被储存下来用于长期的血细胞发生（Arai et al. 2004；Qian et al. 2007；Yoshihara et al. 2007）。使用改进的成像技术观察显示，骨内膜微环境中分布有窦状的微血管 [14]（Nombela-Arrieta et al. 2013），一些造血干细胞（c-Kit 阳性）和一些祖细胞与这个具有高度渗透性的微血管系统紧密接触（图 5.16）。长期以来一直认为骨内膜微环境比血管周微环境处在更低氧的状态，但这些微血管毫无

[14] 窦状微血管是一些富含开孔的小血管，使得它们与所在组织之间有较大的渗透性。



拓展性问题

我们讨论了造血干细胞微环境的两个不同区域，是否还有其他区域？有报道提出骨髓间充质干细胞对造血干细胞起独特的调控作用，因此在一个微环境中形成自身的微环境。你是怎么想的？细胞之间的信息传递，以及造血干细胞在骨内膜、血管周和(潜在的)间充质干细胞微环境中的运动是如何协调的？

图 5.16 造血干细胞位于骨髓微血管的周围。c-Kit 受体（绿色）标记造血干细胞和祖细胞，这些细胞与微环境的窦状微血管（用层粘连蛋白抗体染色，红色）直接接触。造血干细胞与微环境中所有类型的血管相连。观察发育 5.1 显示这个图的三维投影（来自 Nombela-Arrieta et al. 2013）。

疑问地将氧带至骨内膜区域，使血窦周围的微小区域变得不是那么缺氧。有人甚至提出，微环境中的干细胞能以氧含量的差异作为确定血管位置的信息（Nombela-Arrieta et al. 2013）。

观察发育 5.1 观察血管周围造血干细胞的旋转投影。

5.7.3 血管周微环境的调节机制

造血干细胞也与血管周微环境的脉管系统相联系。有多种分泌 CXCL12 的细胞类型，如内皮细胞和富含 CXCL12 的网状（CAR）细胞（见图 5.15；Sugiyama et al. 2006）。尽管富含 CXCL12 的网状细胞缺失 CXCL12 时看似不影响造血干细胞，但这的确会引起造血祖细胞被显著地调动进入血流，以及相随的 B 淋巴细胞（分泌抗体的细胞）祖细胞的缺失。在这个微环境中表达 CXCL12 的其他细胞是**间充质干细胞**（**mesenchymal stem cell**，**MSC**），它们在造血干细胞微环境中起主要的调节作用（见图 5.15；Méndez-Ferrer et al. 2010）。在这些间充质干细胞中选择性地敲除 CXCL12 能导致造血干细胞的缺失（Greenbaum et al. 2013）。

对 CXCL2 的细胞特异性调节似乎是血管周微环境中决定休眠状态，以及维持造血干细胞和祖细胞的重要机制。这是一个复杂的过程，与祖细胞被调动至血流的速度在每日的波动相关；造血干细胞在夜间更多地进行细胞分裂，而祖细胞在白天更多地迁移到血流。这种昼夜图式的调动受控于侵入骨髓的交感神经轴突所释放的去甲肾上腺素（见图 5.15；Méndez-Ferrer et al. 2008；Kollet et al. 2012）。间质细胞的受体应答这个神经递质，下调 *CXCL12* 的表达，暂时性地降低它们对造血干细胞和祖细胞的滞留，使得这些细胞被释放到循环系统。尽管昼夜节律能刺激造血干细胞的增殖，但长期的压力会导致去甲肾上腺素释放的升高（Heidt et al. 2014），这会降低 CXCL12 的水平，随之降低造血干细胞的增殖，促进它们被调动至循环系统。所以，等下次你睡醒之后，要知道你的交感神经系统也同时叫醒了你的造血干细胞。

其他信号因子（Wnt、转化生长因子 -β、Notch/Jagged1、干细胞因子、整联蛋白；见综述文章 Al-Drees et al. 2015；Boulais and Frenette 2015）在不同条件下影响不同血细胞类型的生成速度；这方面的例子是感染过程中白细胞数量的升高，以及你爬到高海拔时红细胞数量的升高。这个系统失调后会导致血液疾病，如各种类型的血癌。骨髓增殖性疾病就是一种缺少血细胞分化的正确信号而导致的癌变（Walkley et al. 2007a，b）。这是由于成骨细胞不能正常发挥作用，导致造血干细胞迅速增殖而不进行分化

（Raaijmakers et al. 2010，2012）。

5.8　间充质干细胞：支持各种成体组织

很多成体干细胞只能形成少数的细胞类型（Wagers et al. 2002）。例如，将绿色荧光蛋白标记的造血干细胞移植到小鼠，这些被标记的后代分布在整个血液，但在其他组织中却没有分布[15]（Alvarez-Dolado et al. 2003）。但是，另一些成体干细胞却出人意料地显示很大程度的可塑性。这些具有局限多能性的间充质干细胞有时被称为**骨髓源干细胞**（**bone marrow-derived stem cell，BMDC**），它们的潜能一直是一个有争议的问题（Bianco 2014）。

局限性多能间充质干细胞最初是在骨髓中被发现的（Friedenstein et al. 1968；Caplan 1991），但这些细胞也存在于众多的成体组织（如皮肤的真皮、骨、脂肪、软骨、腱、肌肉、胸腺、角膜、牙髓），以及脐带和胎盘（见 Gronthos et al. 2000；Hirata et al. 2004；Traggiai et al. 2004；Perry et al. 2008；Kuhn and Tuan 2010；Nazarov et al. 2012；Via et al. 2012）。的确，人的脐带和乳牙（“小儿”牙）含有间充质干细胞这个发现使得一些医生建议父母将孩子的脐带或脱落的乳牙冻存起来，以便在以后需要的时候使用这些细胞进行移植[16]。间充质干细胞是否能通过多能性的测验，即在胚泡中产生所有三个胚层细胞的能力，一直是一个悬而未解的问题。

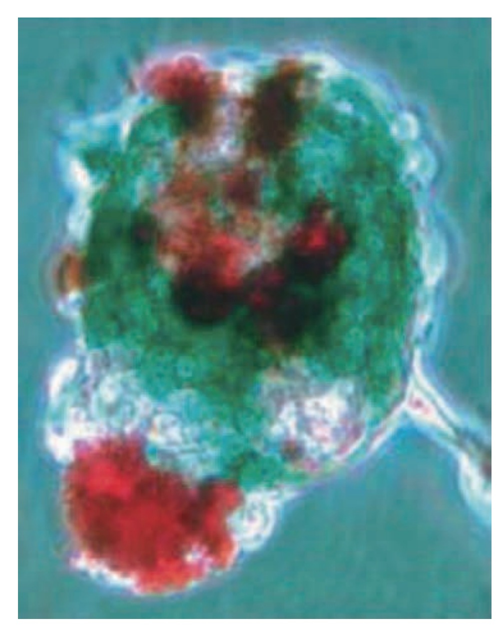


图 5.17　具有两种衍生细胞类型的间充质球。体外培养的间充质干细胞能形成具有不同细胞类型的间充质球。这个图中的间充质球含有成骨细胞（骨形成细胞；蓝绿色）和脂肪细胞（脂肪形成细胞；红色）（来自 Méndez-Ferrer et al. 2010）。

关于间充质干细胞的很多争议在于它们一方面作为支持性间质细胞，另一方面作为干细胞的“人格分裂”。在形态上，间充质干细胞很像成纤维细胞——一种分泌结缔组织（间质）的细胞外基质的细胞类型。但是在体外，间充质干细胞却与成纤维细胞有所不同。体外培养的一个间充质干细胞能自我更新，产生一个克隆的细胞群体，进而在体外形成具有各种细胞类型的器官（图 5.17；Sacchetti et al. 2007；Méndez-Ferrer et al. 2010；Bianco 2014 综述）。与骨髓中的情况类似，其他组织的间充质干细胞既有祖细胞的作用，也有可能通过旁分泌信号调节微环境的驻留干细胞（Gnecchi et al. 2009；Kfoury and Scadden 2015）。

5.8.1　间充质干细胞发育的调节

一些旁分泌因子能引导间充质干细胞向特定的谱系发育。血小板源性生长因子（PDGF）对脂肪形成和软骨发生至关重要，转化生长因子 -β（TGF-β）信号也对软骨发生有重要的作用，而成纤维细胞生长因子（FGF）信号对骨细胞的分化是必要的（Pittenger et al. 1999；Dezawa et al. 2005；Ng et al. 2008；Jackson et al. 2010）。这些旁分泌信号因子既参与间充质干细胞的分化，也能调节微环境的驻留干细胞。例如，有研究证明间充质干细胞在毛囊和骨骼肌的发育及再生过程中具有重要的双重作用，它们既是局限性多能祖细胞，也是干细胞微环境调节物（Kfoury and Scadden 2015）。皮肤的表皮及相关毛囊的快速周转需要驻留干细胞的稳健激活（见第 16 章）。在皮肤生长和再生过程中，毛囊周围的未成熟脂肪祖细胞对促进干

[15] 最初的一些移植的确显示造血干细胞能进入各种组织，包括脑。但是，后来证明这个结果是由一些融合事件引起的，而不是造血干细胞衍生的谱系。针对这个问题的进一步研究，见 Alvarez-Dolado et al. 2003 及 Arturo Alvarez-Buylla 在 2005 年参与的一个网络会议。

[16] 保留脐带细胞的另一个理由是这些细胞含有造血干细胞，假如这个孩子后来出现白血病，可以用这些干细胞进行移植和治疗。

细胞的激活既是必要的也是充分的，而这个作用是通过 PDGF 旁分泌机制实现的（Festa et al. 2011）。

类似地，在骨骼肌中被称为纤维性脂肪形成祖细胞（fibroadipogenic progenitor，FAP）的一种间充质细胞类型也具有产生白脂肪的功能（如这个名称中的 *adipogenic* 部分所暗示）。但是，在应答肌细胞损伤时，FAP 细胞能增高肌卫星干细胞向成肌细胞分化的速度（Joe et al. 2010；Pannérec et al. 2013；Formicola et al. 2014）。事实上，有研究认为肌干细胞微环境中 FAP 细胞数量的增多可以作为一种抗衰老的机制，并能减少杜氏肌营养不良的影响（Formicola et al. 2014）。间充质干细胞与早衰综合征（Hutchinson-Gilford 早老症）（见图 23.1B）之间的联系进一步证明了这个假说，其中，间充质干细胞不能分化成一些细胞类型（如脂肪细胞）可能是导致这个综合征的原因（Scaffidi and Misteli 2008）。根据这些结果可以推断，间充质干细胞自身或它们的分化能力的缺失都可能是正常衰老综合征的一个原因。

间充质干细胞的分化不仅取决于旁分泌因子，也受干细胞微环境中细胞外基质的影响。一些细胞外基质成分，如层粘连蛋白，能使间充质干细胞保持在一个未分化的“干性”状态（Kuhn and Tuan 2010）。利用物理基质能影响间充质干细胞这个有利条件，研究人员用不同的基质表面在体外培养干细胞，获得了一些衍生的细胞类型。例如，如果将人的间充质干细胞培养在胶原蛋白软基质上，这些细胞将分化成神经元，而在体内它们不会产生这种细胞类型。如果将间充质干细胞培养在具有适度弹性的胶原蛋白基质上，它们变成肌细胞，而在硬基质上，它们会变成骨细胞（**图 5.18**；Engler et al. 2006）。目前还不清楚间充质干细胞在体内是否也具有这些潜能。随着技术手段的改进，对各种间充质干细胞微环境特性的进一步了解将会为我们提供这方面的答案。

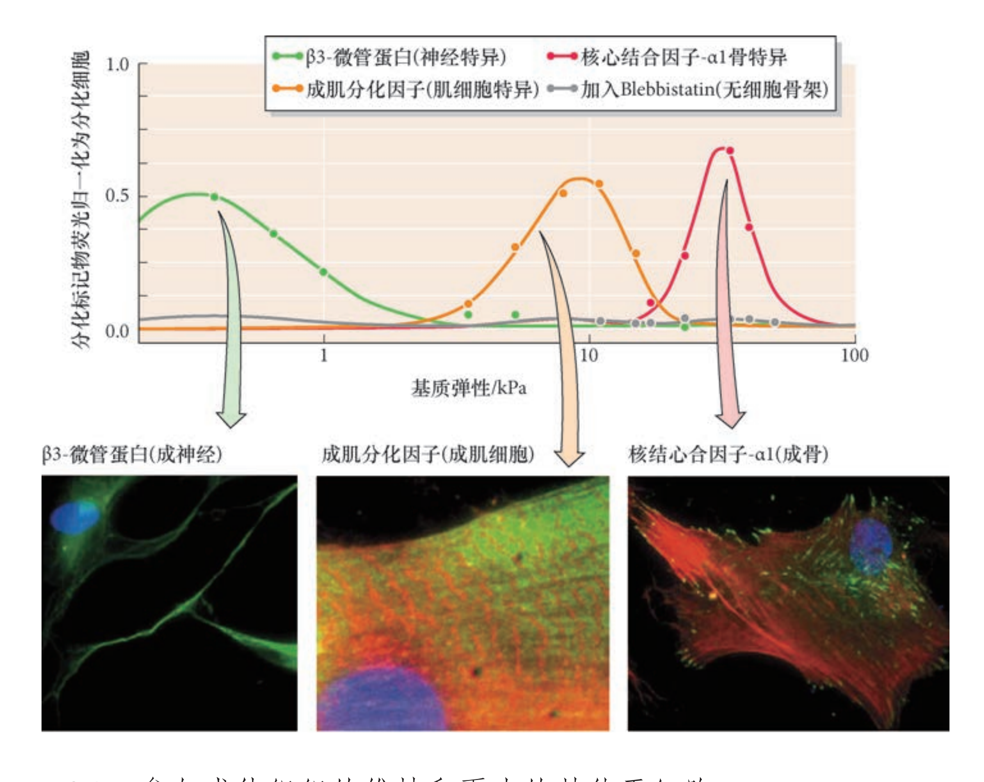
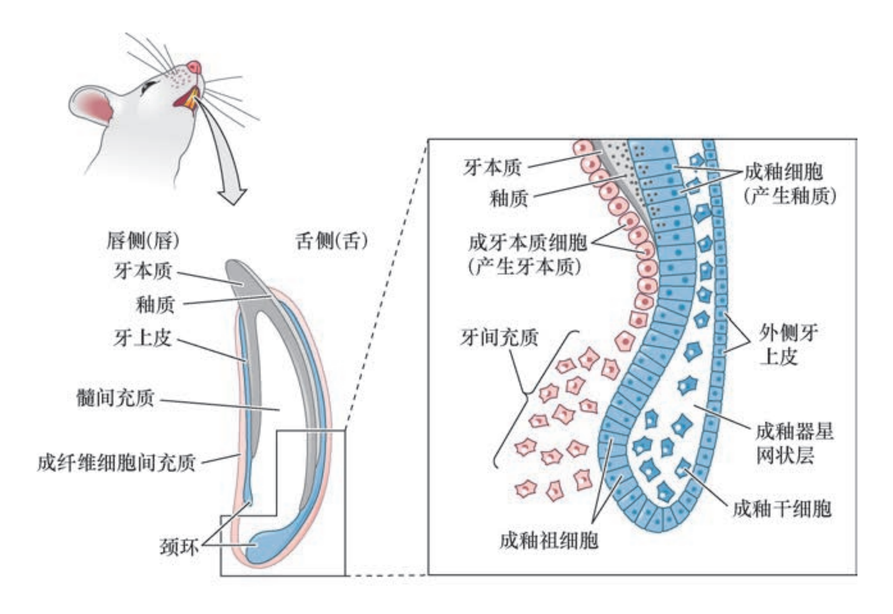


图 5.18 间充质干细胞的分化受基质弹性的影响。在类似于脑弹性（0.1 ～ 1kPa）的胶原涂层凝胶上，人的间充质干细胞能分化成表达神经标记物（如 β3- 微管蛋白）的细胞，而不分化成表达肌细胞标记物（如成肌分化因子）或骨细胞标记物（如核心结合因子 -α1）的细胞。当凝胶变硬时，间充质干细胞形成表达肌细胞特异蛋白的细胞，更硬的基质使间充质干细胞分化成表达骨特异标记物的细胞。间充质干细胞在任何基质上的分化都会被 Blebbistatin（肌球蛋白 -II 的抑制物）所阻断，这个抑制物抑制微丝在细胞膜上的组装（参考 Engler et al. 2006；照片由 J. Shields 提供）。

5.8.2 参与成体组织的维持和再生的其他干细胞

这一章主要关注了一些比较确定的成体干细胞微环境。但重要的是，我们要认识到目前已经发现了更多的成体干细胞微环境，这些微环境正在为成体干细胞的分子调控提供新的认知。在牙齿、眼、脂肪、肌肉、肾、肝和肺等组织中都发现有成体干细胞。有意思的是，一些动物在进化上丢失了一种干细胞微环境而相近的动物却保留了下来。例如，啮齿动物的门齿与其他哺乳动物的门齿（也包括你们自己的门齿）不同，啮齿类的门齿在动物的整个生命过程中持续生长。在小鼠，每个门齿有两个干细胞微环境（**图 5.19**），一个在“内部”，面对口（舌侧），另一个位于“外部”，面向唇（唇侧）。因为多数其他哺



拓展性问题

间充质干细胞在一段时间内作为祖细胞发挥功能，而在另一段时间内调节其他干细胞，有可能是什么分子机制参与控制这个变化?

图 5.19　小鼠门齿颈环是釉质分泌性成釉细胞的干细胞微环境。这些细胞从星网状层（成釉器）迁移到釉质层，使牙齿持续生长（参考 Wang et al. 2007）。

乳动物不具备这些门齿干细胞微环境，所以它们的牙齿不能再生。我们将在本书的后续部分继续描述其他各种成体干细胞谱系。

5.9　研究发育和疾病的人类模型体系

到目前为止，我们重点关注了干细胞的体内生命。然而，一个干细胞自我更新和分化的特性也能在体外予以控制。在我们能培养人类胚胎干细胞之前（Thomson 1998），研究人员使用永生化的肿瘤细胞或畸胎癌细胞来研究人类发育（Martin 1980）。而研究最多的人类细胞一直是海拉细胞（HeLa），这是用一位名叫 Henrietta Lacks 的妇女的子宫颈癌组织建立起来的一个细胞系（她因为癌症在 1951 年去世，而这个细胞系是在她本人或她的家庭不知情或准许的情况下分离出来的[17]）。这些细胞都不能作为人类正常细胞的模型。但是，现在人们具备了在实验室培养胚胎干细胞和人类成体干细胞的能力，我们终于有了一个易于分析并且能在体外研究人类发育和疾病的模型体系。


科学家讲座 5.5　一个使用干细胞模拟疾病的发育专题片。

5.9.1　实验室的多能干细胞

胚胎干细胞　多能胚胎干细胞是一种特殊情况，因为这些细胞能产生成体哺乳动物身体的所有细胞类型（见 Shevde 2012）。在实验室里，多能胚胎干细胞有两个主要的来源（图 5.20）。我们在这一章的前面提到，一个来源是早期胚泡的内细胞团，这些细胞可以作为胚胎干细胞的一个克隆谱系在体外进行维持（Thomson et al. 1998）。第二个来源是还没有分化成精子或卵子的原生殖细胞。当这些细胞从胚胎中被分离出来并在体外生长时，它们被称为**胚胎生殖细胞**（**embryonic germ cell**）或称为 **EGC**（Shamblott et al. 1998）。

科学家讲座 5.6　Janet Rossant 博士讲解人和小鼠胚胎干细胞之间的差异的一些问题。

[17] Rebecca Skloot 在 2010 年出版的《Henrietta Lacks 的永生生命》这本书中非常完美地详尽描述了 Henrietta Lacks 的故事、科学研究中的海拉细胞及社会政策。

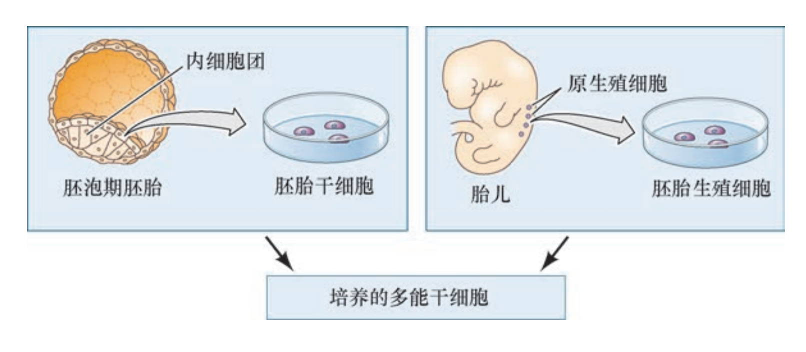


图 5.20 早期胚胎多能干细胞的主要来源。胚胎干细胞（ES 细胞）来自体外培养的早期胚胎内细胞团细胞。胚胎生殖细胞（EG 细胞）来自没有进入生殖腺的原生殖细胞。

与胚胎的内细胞团一样，体外培养的胚胎干细胞的多能性也被相同的三个核心转录因子维持：Oct4、Sox2、Nanog。这些因子以协调的方式发挥作用，激活维持多能性所需的基因调控网络，同时抑制一些引起细胞分化的基因（Marson et al. 2008；Young 2011）。然而，是否所有多能干细胞在形成时都具备相同的潜能？尽管多年来对小鼠和人胚胎干细胞进行的研究毋庸置疑地证明了它们具有多能性（Martin 1981；Evans and Kaufman 1981；Thomson et al. 1998），这些研究也揭示出它们的自我更新程度、它们能产生的细胞类型，以及它们的细胞特征等方面的差异（Martello and Smith 2014；Fonseca et al. 2015；Van der Jeught et al. 2015）。这些差异可能是在体外培养胚胎干细胞时初始内细胞团发育时期的细微差别引起的，这样就可以产生两种不同多能状态的胚胎干细胞：**初始状态**（**naïve**）和**待发状态**（**primed**）[18]。初始状态的胚胎干细胞代表最不成熟和最不分化的胚胎干细胞，具有最大的多能性。相反，待发状态的胚胎干细胞是一个向上胚层谱系成熟的内细胞团细胞，所以它是被“待发”，或准备进行分化。

因此，目前比较一致的共识是多数现有的小鼠胚胎干细胞系仍处于原始状态，而使用人胚胎干细胞系进行的很多研究显示它们主要处于多能性的待发状态。现在也有越来越多的衍生方法可以将内细胞团中初始状态的人胚胎干细胞，甚至是待发的胚胎干细胞，维持在初始的状态（Van der Jeught et al. 2015）。例如，白血病抑制因子（LIF）可以与至少两个激酶的抑制物（称为 2i）组合使用，这两个抑制物与促分裂原活化的蛋白激酶 / 胞外信号调节激酶途径的抑制物（MEK*i*）和糖原合成酶激酶 -3 的抑制物（GSK3*i*）有关（见 Theunissen et al. 2014 文章中的具体例子）。这些因子与其他条件共同作用，阻止胚胎干细胞的分化，并将它们维持在初始或基础状态。

研究人员目前关注的问题是调节胚胎干细胞分化所需的基因网络、表观遗传因素、旁分泌因子及细胞黏附分子。胚胎干细胞能应答一些生长因子的特定组合和时序性诱导，向三个胚层的特定细胞命运分化（**图 5.21**；Murry and Keller 2008）。例如，使用具有特定成分的培养液培养单层的胚胎干细胞能使它们向中胚层命运分化；在一段时间内激活 Wnt 信号，然后将其抑制，胚胎干细胞能分化成具有收缩能力的心肌细胞（Burridge et al. 2012，2014）。相反，抑制骨形态发生蛋白 -4、Wnt 和激活蛋白能促使干细胞向外胚层命运分化，而再添加成纤维细胞生长因子时，这些细胞能被转变成神经元（见图 5.21；Kriks et al. 2011）。

观察发育 5.2 观察培养皿中干细胞源的心肌细胞收缩。


科学家讲座 5.7 2011 年摄制的一个“干细胞和再生医学”发育专题片。

胚胎干细胞培养环境的一些物理约束也能极大地影响它们的分化。将细胞的生长区域限制成小的盘形[19]能使一个细胞群体启动一个类似于早期胚胎的差异性基因表达图式（**图 5.22**；Warmflash et al.

---

[18] 你在查阅过去的干细胞文献时，很重要的一点是要批判性地考虑每个研究中所描述的胚胎干细胞的多能状态。这些胚胎干细胞是处在初始还是处在待发状态，这可能会对作者解释其结果有什么影响？也要注意初始状态（naïve）的胚胎干细胞也被称为“基础状态”（ground state）。

[19] 研究人员使用微型图式的黏附基质，将细胞的生长限制成特定的规模和形状后进行系统性的研究（Warmflash et al. 2014）。在不同的研究中，网格形的基质促使胚胎干细胞分化成多巴胺能神经元（Tan et al. 2015）。

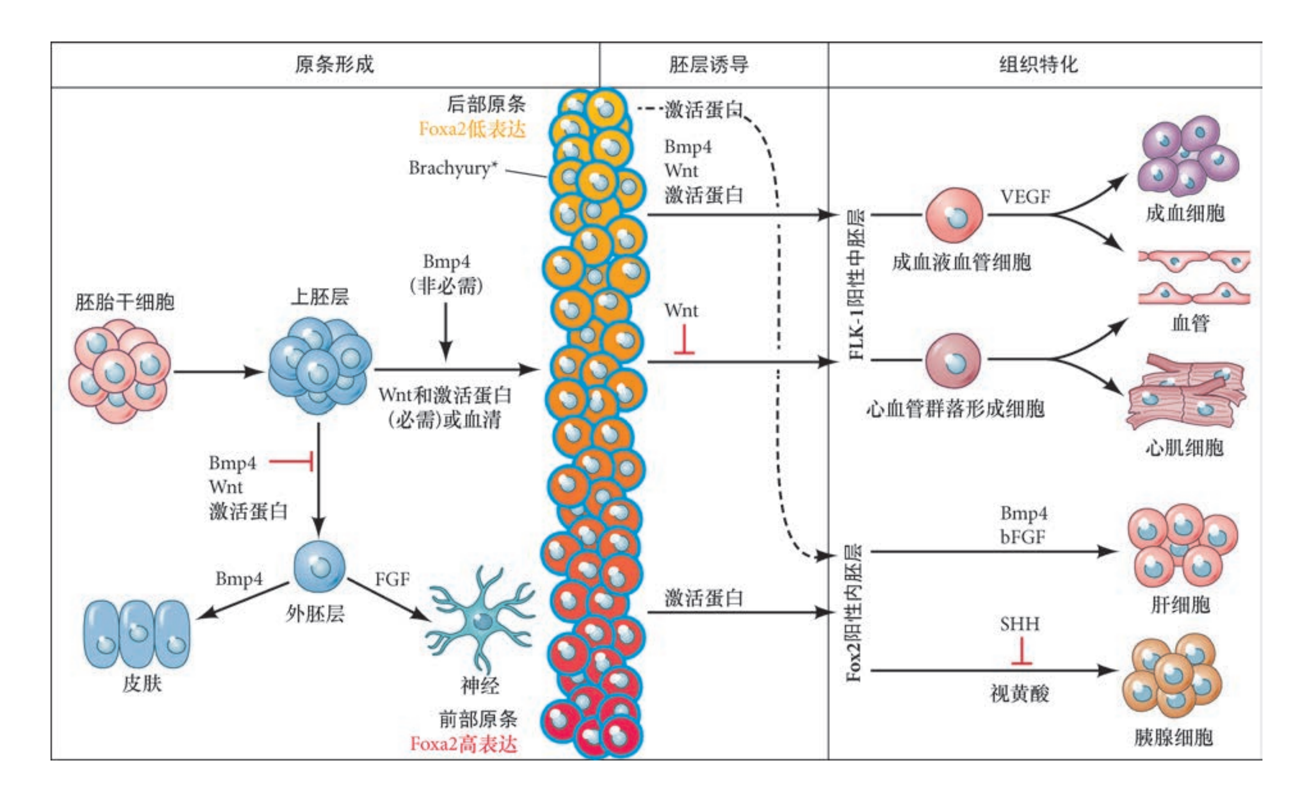


图 5.21　诱导胚胎干细胞的分化。与上胚层细胞在哺乳动物胚胎成熟过程的分化阶段类似，体外培养的胚胎干细胞能被相同的发育因子诱导（旁分泌因子和转录因子等）而分化成每个胚层的细胞类型。抑制一些生长因子能使胚胎干细胞分化成外胚层谱系；但要分化成中胚层或内胚层，胚胎干细胞首先需要被一些旁分泌因子诱导成原条样的细胞，这些因子包括 Wnt、骨形态发生蛋白 -4（Bmp4）或激活蛋白，取决于你希望得到的分化细胞类型。FGF：成纤维细胞生长因子；VEGF：血管内皮细胞生长因子；bFGF：碱性成纤维细胞生长因子（参考 Murry and Keller 2008）。

拓展性问题

现在有哪些方法可以用来分离和维持初始状态的人类胚胎干细胞？这些细胞的多能性证据是将人的胚胎干细胞移植到小鼠的桑椹胚后，在种间嵌合的人化小鼠胚胎中观察各种分化的细胞类型 (Gafni et al. 2013)。尽管美国联邦基金不能用于制备人与小鼠的嵌合体，但在其他国家没有这样的规则。在理论上似乎可以用人胚胎干细胞制备一个受小鼠滋养外胚层支持的内细胞团。至少，这样做能直接研究人的原肠胚形成。那么，能用这种方式来研究人的原肠胚吗？这样的研究会产生什么样的伦理担忧？

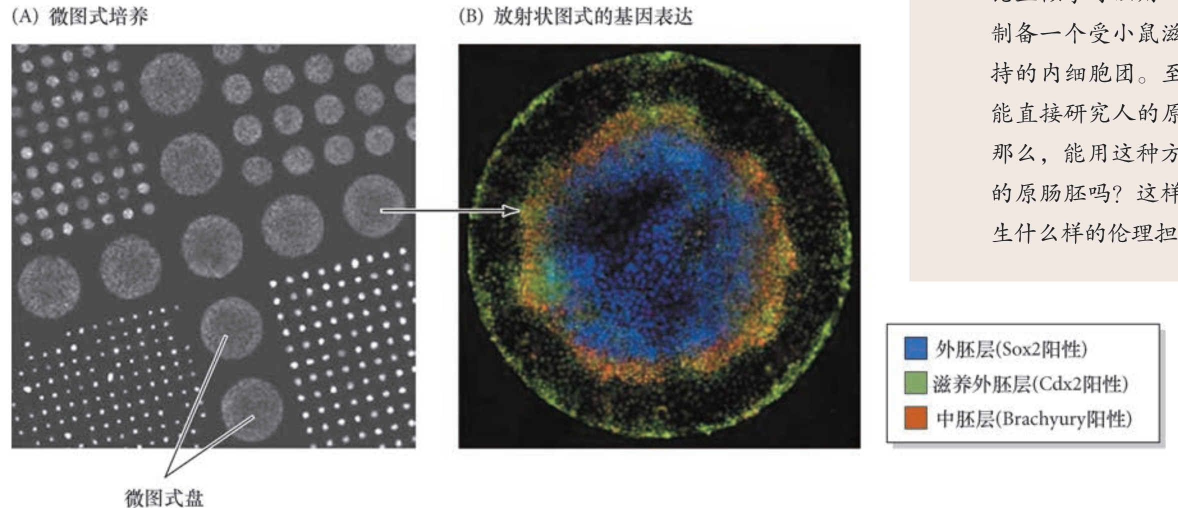


图 5.22　限制性微图式盘上培养的人胚胎干细胞显示出类似于早期胚胎的差异性基因表达（来自 Warmflash et al. 2014）。

2014）。这些结果显示，仅通过改变细胞生长环境的几何形状和规模就可以启动一个惊人数量的图式形成。这些发现也能使人们进一步研究人类细胞的一些特定类型和功能，以及它们的医学应用。

胚胎干细胞与再生医学 人类干细胞研究的最大期望是找到治疗疾病和修复创伤的方法。事实上，多能干细胞已经开启了一个称为**再生医学**（**regenerative medicine**）的新治疗领域（Wu and Hochelinger 2011；Robinton and Daley 2012）。使用干细胞治疗的可能性在于它们具备分化成任何细胞类型的能力，尤其是用于治疗成体细胞退化的状况（如阿尔茨海默病、帕金森病、糖尿病和肝硬化）。例如，Kerr 及其同事（2003）发现，人的胚胎生殖细胞能在成体大鼠中治愈运动神经元损伤，这些细胞既能分化成新的神经元，也能分泌阻止已有神经元发生死亡的旁分泌因子（脑源性神经营养因子和转化生长因子 -α）。类似地，源于胚胎干细胞并分泌多巴胺的神经元前体细胞（Kriks et al. 2011）能完成向多巴胺能神经元的分化，将这些细胞移植到小鼠、大鼠，甚至是猴子的脑中能治愈类似于帕金森病的状态。

尽管使用干细胞进行治疗的潜能令人振奋，另一个研究方向是了解疾病的发生和评估药物的效用。这些研究已经使人们对一些罕见的血液疾病有了进一步的认识，如范科尼贫血（Fanconi anemia），一种导致骨髓功能障碍，以及随之发生的红细胞和白细胞缺失的疾病（Zhu et al. 2011）。通常，一些像范科尼贫血这样的疾病都是由**亚效突变**（**hypomorphic mutation**）造成的，这是一些降低基因功能的突变，而不是导致蛋白质功能完全丧失的“无效”突变。使用 RNA 干扰（不是敲除）敲低范科尼贫血基因的特定亚型，研究人员利用人胚胎干细胞制备了一个范科尼贫血模型（Tulpule et al. 2010）。这些结果为了解范科尼贫血基因在胚胎血细胞发生初始阶段的作用提供了新的认知。

很遗憾，拓展使用胚胎干细胞来模拟人类疾病面临真正的挑战。其中一个原因是只能在发育的早期获得胚胎干细胞；另一个原因是人类疾病涉及一些有漫长分化事件的细胞，并且通常是多基因性的（由很多基因相互作用而引起的）。还有一个更复杂的问题是在治疗时，接收胚胎干细胞的患者可能会出现免疫排斥的危险。源于胚胎干细胞的移植细胞来自另一个个体，所以这些细胞与患者的细胞具有不同的基因型，因此，与任何其他组织移植一样，这些细胞也可能被患者的免疫系统所排斥[20]。此外，应用胚胎干细胞进行治疗也会产生各种社会和伦理问题，因为这些细胞来自人的胚泡，也称为胚胎（Gilbert et al. 2005；Siegel 2008；NSF 2012）[21]。如果我们能从一些被诊断出已知疾病的个体中获取类似的多能干细胞，那么这样的细胞也许能用于研究这些疾病，并能提供新的治疗手段。在寻找多能干细胞时，也许可以通过一种方式对它们进行诱导。

科学家讲座 5.8 George Daley 博士讲述关于模拟范科尼贫血和其他血液病的问题。一个发育专题片也涉及了罕见血液障碍的建模。

科学家讲座 5.9 Bernard Siegel 关于干细胞，以及克隆伦理和公共规则的网络视频。在 2011 年摄制的一个专题片中也涉及了干细胞伦理和国家法规。

5.9.2 诱导多能干细胞

尽管我们知道分化的体细胞核中保留了一个个体的完整基因组，生物学家之前一直认为其潜能已经急剧下降，而且不可逆转。我们以前认为一个细胞分化后便不能再恢复到未成熟和具有可塑性的状态。但是，一些转录因子能维持多能性这个新发现使得体细胞被重新编程为胚胎干细胞样的细胞有了一个很

[20] 靶向脑疾病的一个原因是脑和眼属于少数几个免疫排斥不是很严重的位置。脑中内皮细胞的血脑屏障使脑和眼与免疫系统隔离。

[21] 在 2010 年，两个干细胞研究专家针对美国政府禁止使用联邦基金进行人类胚胎干细胞的研究提出了诉讼。这个诉讼使美国的人类胚胎干细胞研究停滞了好几个月。你们可以阅读 Wadman（2011）的文章，听一下其中一个原告——Theresa Deisher 参与的一个网络会议，这个视频是在 2011 年 Sherley 诉讼 Sebelius 的开庭过程中录制的。

简单的方法。

2006 年，日本京都大学的研究人员 Kazutoshi Takahashi 和 Shinya Yamanaka 使用四个编码转录因子的基因几乎能将成年小鼠身体的任何细胞转变成具有胚胎干细胞多能性的**诱导多能干细胞**（**induced pluripotent stem cell，iPSC**）。这些基因是：*Sox2* 和 *Oct4*（它们能激活参与建立多能性和阻止分化的 Nanog 及其他转录因子），*c-Myc*（这个基因的产物能打开染色质，使 Sox2、Oct4、Nanog 接近靶基因），*Klf4*（该基因阻止细胞死亡；见图 3.14）。

在这个工作（Takahashi and Yamanaka 2006）发表后的 6 个月内，其他三个实验室报道了相同的或类似的转录因子能在各种分化的人细胞中诱导出多能性（Takahashi et al. 2007；Yu et al. 2007；Park et al. 2008）。像胚胎干细胞一样，诱导多能干细胞谱系能无限增殖，并且，无论是在体外培养还是在一个畸胎瘤中都能形成具有三个胚层特征的细胞类型。2012 年，细胞培养技术的改进使得小鼠的诱导多能干细胞呈现出几乎与小鼠胚胎干细胞相同的基因表达图式（Stadtfeld et al. 2012）。最重要的是，一个单一的诱导多能干细胞能产生一个完整的小鼠，显示出完全的多能性。尽管诱导多能干细胞在功能上是多能的，但它们最容易形成与自身来源相同的器官中的一些细胞类型（Moad et al. 2013）。这些数据显示，就像初始状态相对于待发状态的胚胎干细胞一样，不是所有的诱导多能干细胞都是等同的，它们可能保留了一个初始的表观遗传记忆。

科学家讲座 5.10 2009 年和 2011 年录制的细胞重编程发育专题片。

科学家讲座 5.11 Rudolf Jaenisch 博士关于诱导多能干细胞和 Derrick Rossi 博士关于用 mRNA 产生诱导多能干细胞的问答会。

诱导多能干细胞在人类发育和疾病中的应用 医学研究人员可以利用诱导多能干细胞来尝试治疗病变的人组织，避免了使用人胚胎干细胞所带来的一些复杂因素。目前，诱导多能干细胞主要有四个医学用途：①制备患者特异的诱导多能干细胞，用于研究疾病的病理学；②将基因疗法与患者特异的诱导多能干细胞结合起来治疗疾病；③使用患者特异的诱导多能干细胞的祖细胞进行移植，避免免疫排斥反应的并发症；④使用来自患者特异的诱导多能干细胞的分化细胞进行药物筛选。

将源于小鼠诱导多能干细胞的细胞移植回同一供体小鼠不会产生免疫排斥（Guha et al. 2013），说明基于诱导多能干细胞的细胞替换可能是未来极有前景的疗法[22]。到目前为止，使用诱导多能干细胞最显著的进展是模拟人类疾病。其中一个主要的研究（Park et al. 2008）是人们已经从与 10 种不同疾病相关的患者中制备了诱导多能干细胞，在此之后，很多研究运用了诱导多能干细胞模拟各种疾病，包括唐氏综合征、糖尿病及其他疾病（Singh et al. 2015）。

疾病建模对于一些不容易使用非人类生物建模的疾病尤为重要。例如，小鼠和人患有不同类型的囊性纤维化，这是一种严重损害肺功能的疾病。在发现了一些因子能够引起小鼠诱导多能干细胞分化成肺组织之后（图 5.23；Mou at al. 2012），研究人员从患有囊性纤维化的一名患者中制备了诱导多能干细胞，然后将这些细胞转变成具有人囊性纤维化特征的肺上皮。囊性纤维化通常是由于单基因突变的结果（这个基因编码一个氯离子通道蛋白，是囊性纤维化跨膜电导的调节物；Riordan et al. 1989；Kerem et al. 1989），研究人员试图在这些诱导多能干细胞中修复人的基因突变。Crane 及其同事（2015）在一个囊性纤维化患者的诱导多能干细胞中达到了这个目的，使这些细胞在分化的肺上皮中产生了有功能的氯离子通道。下一步的工作将是在非人类动物模型中检测这个方法是否能治疗人的囊性纤维化。

---

[22] 目前，获取诱导多能干细胞衍生类型的成本和可操作性，以及实现细胞替代治疗所需的细胞数量，都是制约这个手段在医疗干预方面发展的显著障碍。

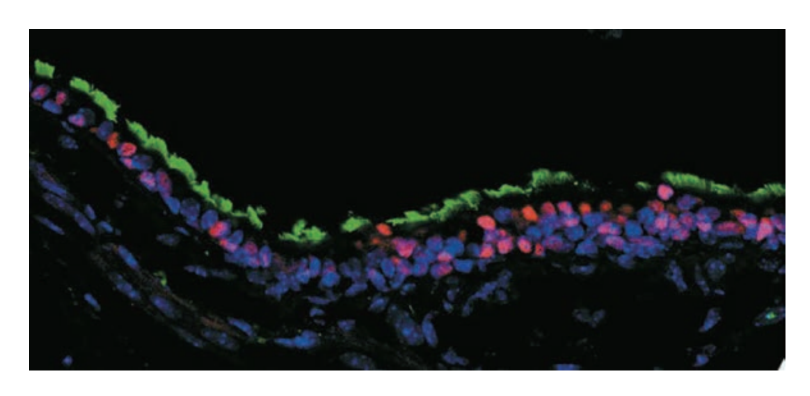


图 5.23 源于小鼠诱导多能干细胞的肺上皮。红色标记肺转录因子 Nkx2.1，显示诱导多能干细胞形成肺上皮。绿色标记上皮纤毛的微管，其功能在囊性纤维化患者中受到干扰。蓝色标记细胞核（照片由 J. Rajagopal 提供）。

在 2007 年，Rudolf Jaenisch 的实验室通过治愈镰状细胞贫血的小鼠模型，有力地证明了诱导多能干细胞与基因矫正相结合的优势。这种疾病是由于血红蛋白基因突变所造成的。Jaenisch 的实验室从小鼠中制备了诱导多能干细胞，矫正了血红蛋白基因，然后使这些细胞分化成造血干细胞，将分化的细胞植入小鼠体内后治愈了镰状细胞贫血的表型（图 5.24；Hanna et al. 2007）。目前正在进行的研究旨在确定类似的疗法是否能治愈一些人类疾病，如糖尿病、黄斑变性、脊髓损伤、帕金森病和老年痴呆症，以及肝和心脏疾病。其他研究证明诱导多能干细胞可以被诱导形成很多细胞类型，当被植回到它们自身来源的生物体内后能行使正常功能。甚至精子和卵母细胞都已经从小鼠的诱导多能干细胞中被诱导出来。首先，皮肤成纤维细胞被诱导形成诱导多能干细胞，然后这些细胞再被诱导成原生殖细胞。当这些被诱导的原生殖细胞与生殖腺组织聚集时，它们就会进行减数分裂，变成有功能的生殖细胞（Hayashi et al. 2011；Hayashi et al. 2012）。这个工作对克服很多类型的不育症，以及使科学家详细研究减数分裂都具有重要的意义。

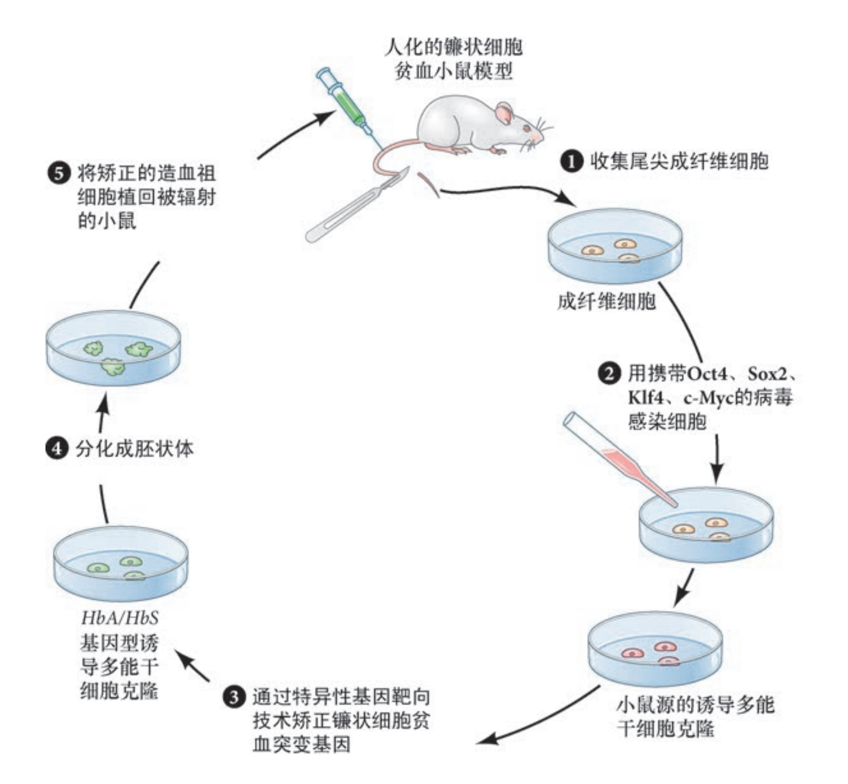


图 5.24 在小鼠中使用诱导多能干细胞结合重组遗传学治愈一种“人”疾病的步骤。①从小鼠尾尖部位获得成纤维细胞，该小鼠的基因组携带人的镰状细胞贫血基因（*HbS*），但其自身不具有这个基因。②这些成纤维细胞被培养在体外，然后用携带诱导多能性的四个转录因子的病毒感染细胞。③诱导多能干细胞具有独特的形态，并被导入了人的野生型珠蛋白基因（*HbA*）。④使这些胚胎在体外分化。它们形成了含有造血干细胞的“胚状体”。⑤将来自这些胚状体的造血祖细胞和干细胞注射到初始的小鼠后治愈了镰状细胞贫血（参考 Hanna et al. 2007）。

拓展性问题

我们讨论了利用干细胞模拟人类疾病，你能在培养皿中研究脊椎动物进化吗？像 Alysson Muotri 这样的一些研究人员关注来自人类和各种非人类灵长目动物的诱导多能干细胞之间的差异，如细胞行为、自我更新能力和潜能。通过比较来自不同物种的干细胞的转录组和生理特征，我们能对人类进化有更深入的了解，你会问一些什么特定的问题？你预测的结果是什么？



科学家讲座 5.12　2012 年创作的模拟神经系统疾病的一个发育专题片。

诱导多能干细胞模拟人类多基因疾病　研究一种人类疾病的一个挑战是引起一种疾病的各种基因，以及这种疾病发生的时间和发展进程存在个体差异。值得庆幸的是，诱导多能干细胞为克服这些复杂因素提供了新的手段。这里我们着重关注诱导多能干细胞在两个尤其复杂和多基因的神经系统疾病中的研究应用，这两种疾病出现在发育过程的完全相反方向：孤独症谱系障碍和肌萎缩侧索硬化。

孤独症谱系障碍表现出一系列的神经功能障碍，主要影响社交和认知能力，在 3 岁后开始明显表现出来[23]。这个谱系中的障碍包括典型孤独症、阿斯博格综合征、脆性 X 综合征和雷特综合征。雷特综合征看似只与一个基因关联（甲基化 CpG 结合蛋白 -2，MeCP2）。相反地，孤独症是一种真正的多等位基因疾病，其中一些小孩呈现出非综合征的症状（孤独症的起因不明），并可能具有一些散发性的突变（Iossifov et al. 2014；Ronemus et al. 2014；De Rubeis and Buxbaum 2015）。事实上，很多病因（遗传和环境因素）对每个孤独症儿童都是独特的，这给研究孤独症带来了很大的挑战。

一个方法是从尽可能多的孤独症谱系儿童中制备诱导多能干细胞，以便对那些与疾病关联的基因有更全面的了解。这个方法受到牙仙项目（Tooth Fairy Project）的帮助，通过这个计划捐献的脱落乳齿能提供足够的牙髓来制备诱导多能干细胞[24]。使用来自一个非综合征孤独症儿童的诱导多能干细胞，研究人员成功培养了神经元并在 TRPC6（瞬时受体电位离子通道）钙离子通道基因上发现了一个突变，该突变使神经元的结构和功能受损（Griesi-Oliveira et al. 2014）。他们进一步证明，用贯叶金丝桃素（在圣约翰草中发现的化合物，能刺激钙离子内流）处理突变细胞能改善神经元功能。实验证明 *TRPC6* 的表达受 MeCP2 的调节，这证实了孤独症和雷特综合征之间的直接遗传关联。更显著的是，对这个儿童的医疗干预现在改成使用圣约翰草，显示出在未来实施患者特异的精准医学的潜力。上述发现证明，诱导多能干细胞在模拟一种复杂疾病和寻找直接干预患者的机制中有重要作用。

肌萎缩侧索硬化（ALS）或 Lou Gehrig 氏病，是一种通过家族性遗传及散发性多等位基因突变引起的成年型退行性运动神经元疾病；不幸的是，这个病无法治愈或治疗。在 2008 年，Kevin Eggan 的实验室从肌萎缩侧索硬化患者中制备了疾病特异的诱导多能干细胞（Dimos et al. 2008）。来自肌萎缩侧索硬化患者的诱导多能干细胞能分化成运动神经元和一些非神经元细胞类型，如星形胶质细胞，这些细胞都与肌萎缩侧索硬化的表型有关。最近，研究人员成功地使患者的诱导多能干细胞分化成运动神经元，这些诱导多能干细胞携带一个已知的肌萎缩侧索硬化家族性突变，而分化的神经元表现出典型的肌萎缩侧索硬化细胞病理特征（Egawa et al. 2012）。研究人员使用这些分化的运动神经元筛选能够改善运动神经元功能的药物，他们鉴定出一个组蛋白乙酰转移酶抑制物，能降低肌萎缩侧索硬化的细胞表型。因此，使用诱导多能干细胞的实验为阐明肌萎缩侧索硬化如何受表观遗传因素调节，以及如何对其进行治疗提供了新的认知。

科学家讲座 5.13　Carol Marchetto 博士关于使用诱导多能干细胞模拟孤独症、Alysson Muotri 博士关于使用诱导多能干细胞模拟肌萎缩侧索硬化的网络会议。

5.9.3　类器官：在培养皿中研究人的器官发生

我们描述了很多应用多能干细胞（胚胎干细胞和诱导多能干细胞）在细胞水平上研究人类发育和疾病的方式，但是，体外培养的细胞与胚胎的细胞有巨大的差异。人的胚胎（胚泡）通常被用于研究人的

---

[23] 尽管一些孤独症谱系障碍的表征在早期不是很突出，但也能识别出一些微妙的早期迹象，如喜欢凝视人脸的几何形状。

[24] 登录 https://www.cirm.ca.gov/our-progress/video/reversing-autism-lab-help-stem-cells-and-tooth-fairy 网站，Alysson Muotri 博士在这里描述他的研究和牙仙项目。你也可以登录生物网络会议（见科学家讲座 5.13），Muotri 博士在那里讨论使用诱导多能干细胞模拟肌萎缩侧索硬化和孤独症。

发育和治疗不育；但是，使用人胚胎来研究器官发生在技术上一直非常困难，并且对很多人来说也是不道德的。然而，多能干细胞培养技术最近有了新的进展，这使得研究人员能让干细胞生长出原始简单的器官。到目前为止，通过这种方式生长出来的最复杂的结构是眼的视杯、微小的肠、肾组织、肝芽，甚至一些脑的区域（图 5.25A；Lancaster and Knoblich 2014）。

这些**类器官**（**organoid**），就像它们的名称一样，通常只有一粒豌豆大小，能在体外维持一年多的时间。类器官最显著的特征是它们能模拟胚胎的器官发生。一些多潜能的细胞通常能基于细胞之间的差异性黏附自我组织成聚集体（很像原肠胚形成过程中的情况；见第 4 章），引起细胞分选和细胞分化，使具有不同命运的细胞之间相互作用而形成一个器官的组织（图 5.25B）。目前，人们已经制备出源于健康和患病个体的胚胎干细胞及源于诱导多能干细胞的类器官。因此，与胚胎干细胞和诱导多能干细胞相同的治疗手段也可以用于类器官系统。尽管目前这只是个猜测，类器官的制备有可能是产生自体同源[25]结构的有效方式，这不仅能用于患者特异的细胞替代疗法，也能用于组织替代。作为一个例子，下面我们将关注大脑类器官发育相关的一些显著特征，以及它在模拟一个先天性脑疾病中的应用。

大脑类器官 人的大脑皮层无疑是动物界最精致复杂的组织，所以，试图去构建这个结构的一些部分也是令人却步的。具有讽刺意味的是，源于多能干细胞的神经发生好像是一种“默认状态”，与原肠胚的预定成神经细胞类似。很多描述多能干细胞向神经组织发育的前期研究为产生多区域的脑类器官奠

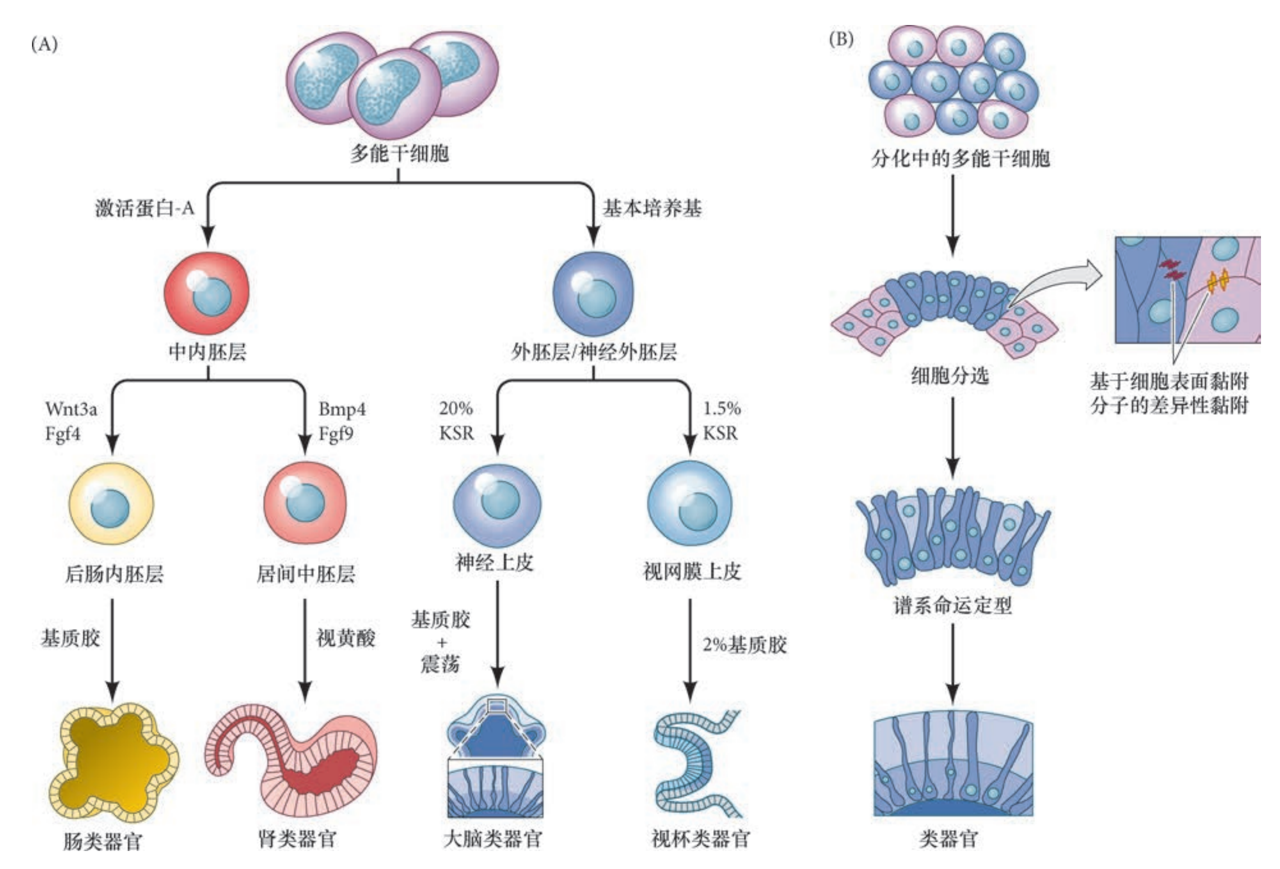


图 5.25 类器官衍生物。(A) 示意图描述促使特定组织类型的类器官进行形态发生的各种方法。在多数情况下，类器官被培养在一个三维的基质上（基质胶）。KSR 是血清替代物。(B) 类器官形成的早期进程起始于差异性基因表达，使细胞表达一些能赋予它们自我组织特性的细胞黏附分子（见第 4 章）。分选后，细胞继续向特定的谱系成熟，不同的谱系相互作用，构建出有功能的组织。Fgf4：成纤维细胞生长因子 -4；Bmp4：骨形态发生蛋白 -4；Fgf9：成纤维细胞生长因子 -9；20% KSR：20% 血清替代物；1.5% KSR：1.5% 血清替代物（参考 Lancaster and Knoblich 2014）。

[25] Autologous（自体同源）指的是来自相同的个体。在这种情况下，患者的细胞被重新编程为能发育成一个特定类器官的诱导多能干细胞。源于这个类器官的细胞和完整组织可以被植回同一患者，这样就不存在免疫排斥的问题。

定了基础（Eiraku et al. 2008；Muguruma et al. 2010；Danjo et al. 2011；Eiraku and Sasai 2012；Mariani et al. 2012）。在相对比较简单的生长条件下，多能干细胞将会自我组织成小球形的一簇细胞，称为胚状体，这些胚状体的细胞将会分化成分层的神经上皮，与胚胎的神经上皮类似。多能干细胞形成三维神经上皮结构的“自我组织”能力充分说明这些细胞具有稳健的内在机制，使它们处在神经发育的待发状态（Harris et al. 2015）。像多数成体干细胞一样，这个神经上皮也沿着顶 - 基轴方向发生极化，并能发育成脑组织。

在一个具有里程碑意义的研究中，研究人员使脑组织类器官在更复杂的水平上进行了分化（Lancaster et al. 2013）。他们将胚状体包裹在一些能提供三维结构的小滴基质胶上（由可溶性的基底膜组成，即存在于上皮基部的细胞外基质），然后这些神经上皮芽被放置在一个充满培养基的旋转生物反应器里（**图 5.26A**；见 Lancaster and Knoblich 2014）。类器官在三维基质中的转动有助于养分的摄取，这样就会支持具有多区域的大脑类器官的充分发育和生长。最后得到的大脑类器官呈现出具有大脑各个区域特征的分层组织，包括应有的神经元和神经胶质细胞标志物（**图 5.26B**）。这些大脑类器官具有放射状胶质细胞，邻近一些脑室样的结构，与正常发育的神经管，甚至是与我们在前面讨论的成体神经干细胞微环境类似（**图 5.26C**）。在大脑类器官中，这些源于人的放射状胶质细胞展示出所有类型的有丝分裂行为：干细胞扩增的对称分裂，以及自我更新和分化的不对称分裂（Lancaster et al. 2013）。

Knoblich 的研究组也从患有严重小头畸形患者的成纤维细胞样品中制备了诱导多能干细胞，以期研究这个疾病的病理学（Lancaster et al. 2013）。小头畸形是一种先天性疾病，主要特征是大脑明显变小（**图 5.27A**）。值得注意的是，来自这个患者的大脑类器官也发育成很小的组织，但是，与正常对照相比，患者的皮质样组织的外层却显示增多的神经元数量（**图 5.27B**）。研究人员在这个患者的 *CDK5RAP2* 基因[26] 上发现了一个突变，而这个基因调节有丝分

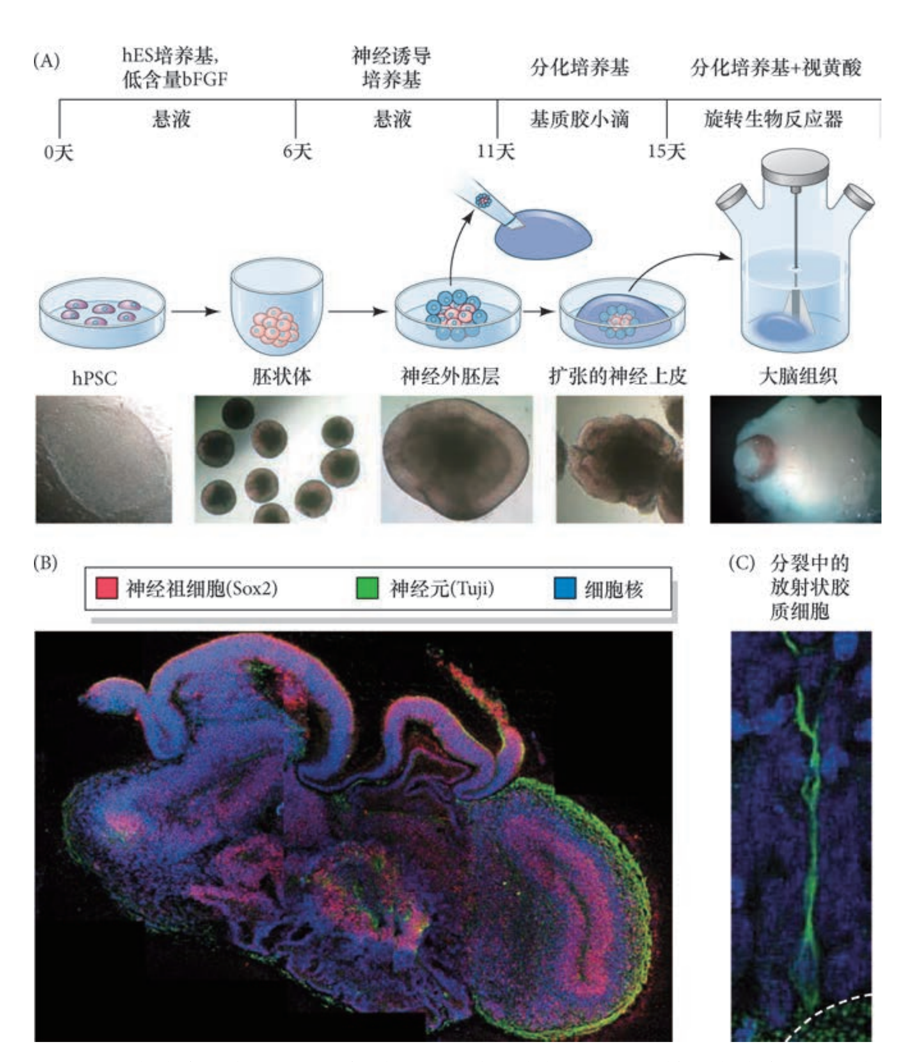


图 5.26　大脑类器官。（A）从初始细胞悬液到生物反应器旋转的大脑类器官制备过程示意图。在每个步骤，发育的大脑类器官都用有代表性的光镜图片显示。（B）大脑类器官的切片，用神经祖细胞（红色；Sox2）、神经元（绿色；Tuji）和细胞核（蓝色）标志物标记，显示发育过程中大脑皮层特征的多层组织结构。（C）被磷酸化波形蛋白标记的放射状胶质细胞进行分裂并显示出特定的形态特征：一个长的基部突出和位于脑室样的腔的顶端膜（白色虚线）。bFGF：碱性成纤维细胞生长因子；hES：人胚胎干细胞；hPSC：人多能性干细胞（来自 Lancaster and Knoblich 2014a，b）。

[26] 周期蛋白依赖性激酶 -5 调节亚基结合蛋白 -2（CDK5RAP2）是一个中心体蛋白，在有丝分裂过程中与有丝分裂纺锤体相作用。

裂纺锤体。而且，这个大脑类器官的放射状胶质细胞显示异常低程度的对称分裂（图 5.27C）。要知道，一个干细胞的最基本功能之一是细胞分裂。这样看来 CDK5RAP2 对增加干细胞储备所需的细胞分裂是必不可少的。缺少对称分裂会导致过早的神经元分化，这就解释了为什么患者的类器官中神经元会出现增多，尽管这个组织的体积很小（Lancaster et al. 2013）。

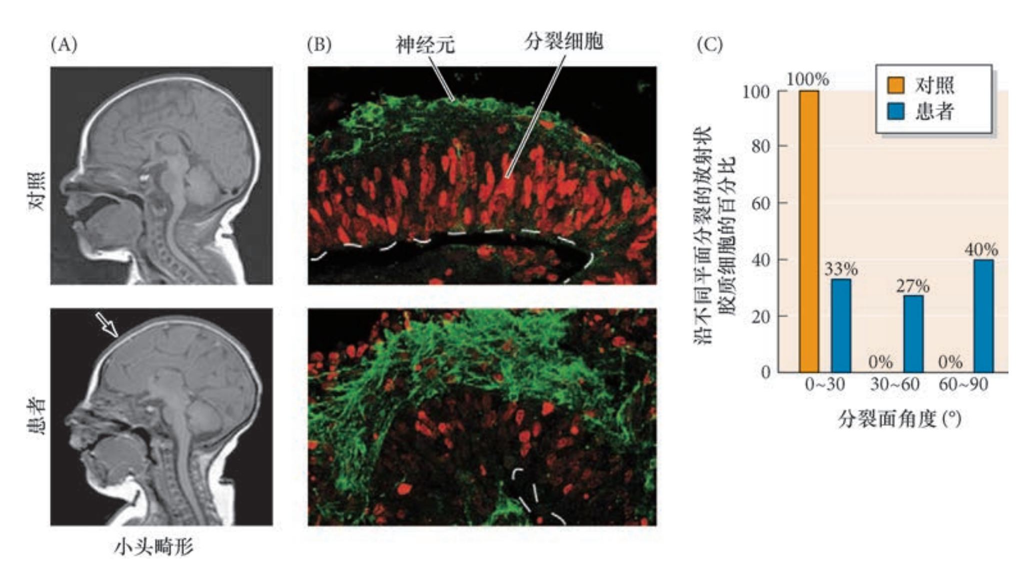


图 5.27 用一个患者特异的大脑类器官模拟人的小头畸形。(A) 核磁共振成像扫描的侧切面，显示出生后年龄相配的对照（上图）和患者的脑。患者呈现变小的脑和减少的脑回（箭所示）。(B) 源于对照和患者的大脑类器官的免疫标记。神经元（绿色）和分裂细胞（红色）分别用双皮质素 (DCX) 和溴脱氧尿苷 (BrdU) 标记。患者的类器官中出现减少的增殖和增多的神经元数量。(C) 沿相对于类器官顶 - 基轴方向的特定切面对进行分裂的放射状胶质细胞数量予以量化。由于缺失 CDK5RAP2，患者的放射状胶质细胞沿所有轴的方向随机分裂（参考 Lancaster et al. 2013）。

5.10 干细胞：希望还是炒作?

诱导、分裂和控制干细胞的能力为再生医学提供了一个希望，使得患者能用自身的干细胞取代病变器官。的确，当你考虑到人们在研究衰老的机制、病变组织的替代、甚至是能力的改善这些方面的进展，医学和科幻之间就没有那么遥远。发育生物学家不但需要考虑干细胞的生物学，也需要考虑使用干细胞时的伦理、经济和司法问题（见 Faden et al. 2003；Dresser 2010；Buchanan 2011）。

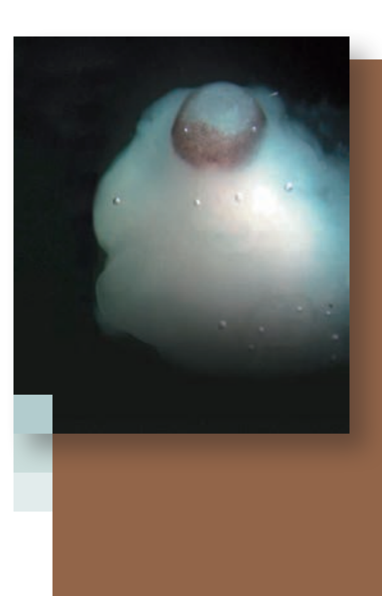
几年前，仅在少数人体临床试验中尝试过干细胞治疗方案（Normile 2012；Cyranoski 2013）。在 clinicaltrials.gov 网站中简单搜索一下干细胞疗法，你将会发现有很多正在进行的干细胞临床试验。尽管目前大多数临床试验都与成体干细胞有关，使用源于人胚胎干细胞和诱导多能干细胞的祖细胞进行的临床试验也正在美国和其他国家实施。但值得关注的是，欺骗性的干细胞疗法也越来越多。国际干细胞研究学会（www.isscr.org）提供了一些关于干细胞的珍贵资源并给出了一些目前许可的干细胞疗法。

干细胞研究可能是一个重大变革的开始，它对医学的重要性（同样也对于社会的变革）等同于一个世纪以前人们对传染微生物的研究。但是，除医学应用的潜力之外，干细胞也能使我们了解更多关于身体如何构建和身体如何维持其结构的信息。干细胞毋庸置疑地使人们相信“发育永不停止”这个观点。

下一步的研究

我们的行为是否能影响脑中的神经发生或血液中的免疫细胞数量？有研究证明运动能提高脑的神经发生，而压力则有相反的作用。这个神奇的反应就提出了一个问题：还有什么别的因素能影响我们整个身体中的细胞发生？是不是某些干细胞能应答一些特殊类型的环境刺激，我们是否能利用这个认知来改

善健康状态和组织再生？例如，是不是有一些饮食能更有益地促进肠上皮细胞的自我更新，或在我们的脑中增加神经发生？健康的睡眠状态、社会交往、阅读、看快乐和悲伤的电影或弹钢琴会有什么作用？这些活动能刺激健康的干细胞发育吗？你怎样去验证这些可能性？





开篇图的思考

本章的最开始提出了这样一个问题，“这真是培养皿里的一个眼和一个脑吗？”在培养皿中用干细胞进行三维组织构建是干细胞具备研究发育和疾病的“潜力”的一个显著例子。是的，这个照片是一个视网膜的色素上皮，生长在一个脑样的脑类器官神经上皮上。尽管这些类器官毋庸置疑地为研究人的器官发生及相关的疾病提供了平台，但这个使人兴奋的事情必须伴随着客观的态度，以便明确这些体系的局限性。大脑类器官目前还缺少什么？考虑一下这些结构：血管、脑脊液流动、脑垂体。不管是脑、肾还是肠的类器官都是不完整的。或许在将来，你的实验能用干细胞在培养皿中制备出首个有功能的器官（图由 Lancaster et al. 2013 提供）。

5 要点总结

干细胞

1. 一个干细胞具有维持分裂的能力，能产生一个自身的副本和一些能够成熟为不同细胞类型的祖细胞。
2. 干细胞潜能是指一个干细胞能产生各种细胞类型的程度。一个全能的干细胞能产生胚胎和胚外谱系的所有细胞类型。多能和局限性多能干细胞分别产生胚胎中的一些局限性谱系和特定组织或器官中的一些局限性谱系。
3. 成体干细胞位于干细胞微环境。多数器官和组织都具有干细胞微环境，如生殖细胞、造血、肠上皮和室管膜 - 室管膜下区微环境。
4. 微环境通过各种细胞与细胞之间的信息传递机制来调节内在干细胞的休眠、增殖和分化状态。
5. 小鼠胚泡的内细胞团细胞通过上皮钙黏素与滋养外胚层之间的相互作用被维持在一个多能性状态，这个互作激活 Hippo 激酶级联反应并抑制 Yap/Taz 作为 *Cdx2* 的转录调节物的功能。
6. 钙黏着蛋白使果蝇卵巢和精巢的生殖干细胞与微环境相联系，将这些细胞分别维持在转化生长因子 -β 和 Unpaired 信号的作用范围内。不对称分裂使后代细胞远离微环境，促使生殖细胞的分化。
7. 哺乳动物脑的室管膜 - 室管膜下区（V-SVZ）代表一个复杂的微环境结构，B 型细胞排列成一个“风车”状的图式，原纤毛位于顶部，而长的放射状突触末端是基部的突触小结。
8. 室管膜 - 室管膜下区持续的 Notch 活性将 B 型细胞维持在休眠状态，而 Notch 活性震荡的提高和前神经基因的表达逐渐促使 B 型细胞成熟为过渡性扩增的 C 型细胞，然后变成迁移的神经祖细胞（A 型细胞）。

9. 其他信号，从神经活动到血管中的一些物质（如生长分化因子 -11），再到 Sonic hedgehog、骨形态发生蛋白 -4 和头蛋白的梯度，都影响室管膜 - 室管膜下区微环境中 B 型细胞的增殖和分化。
10. 肠隐窝基部的基部柱状细胞是肠上皮的克隆性干细胞，产生过渡性扩增的上皮细胞，这些细胞在向绒毛顶部移动的过程中缓慢分化。
11. 隐窝基部的 Wnt 信号维持干细胞的增殖，而隐窝上部的反向骨形态发生蛋白梯度诱导分化。
12. 造血干细胞（HSC）与成骨细胞的黏附使得它们在骨内膜微环境中维持一个休眠状态。更多地接触来自 CAR 细胞（富含 CXCL12 的网状细胞）的 CXCL12 信号和间充质干细胞时，造血干细胞进入增殖状态；在血管周微环境中下调 CXCL12 的表达，促使短期活跃的造血干细胞进入富氧的血管。
13. 间充质干细胞存在于各种组织，包括结缔组织、肌肉、眼、牙齿、骨等组织。这些细胞具有双重功能，既能作为支持性的间质细胞，也能作为局限性多能干细胞。
14. 胚胎多能干细胞和诱导多能干细胞能在体外培养的条件下无限维持，在受到一些组合的因子诱导和（或）物理生长基质限制时能潜在地分化成身体的任何细胞类型。
15. 胚胎多能干细胞和诱导多能干细胞被应用于研究人类细胞的发育和疾病。使用干细胞研究患者特异的罕见血液病范科尼贫血，或孤独症和肌萎缩侧索硬化等病症中的细胞分化已经为人们了解疾病机制提供了新的认知。
16. 多能干细胞也可以应用于再生医学，以重建组织和制备称为类器官的结构，这些组织和类器官似乎具有正常器官中的很多细胞特征。类器官被用于研究人的器官发生和组织水平上的患者特异性疾病进程，但这都是在体外完成的。

拓展阅读

Ables, J. L., J. J. Breunig, A. J. Eisch and P. Rakic. 2011. Not(ch) just development: Notch signalling in the adult brain. *Nature Rev. Neurosci.* 12: 269–283.

Al-Drees, M. A., J. H. Yeo, B. B. Boumelhem, V. I. Antas, K. W. Brigden, C. K. Colonne and S. T. Fraser. 2015. Making blood: The haematopoietic niche throughout ontogeny. *Stem Cells Int.* doi: 10.1155/2015/571893.

Barker, N. 2014. Adult intestinal stem cells: Critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 15: 19–33.

Bianco, P. 2014. "Mesenchymal" stem cells. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 677–704.

Boulais, P. E. and P. S. Frenette. 2015. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood* 125: 2621–2629.

Dimos, J. T. and 12 others. 2008. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 32: 1218–1221.

Fonseca, S. A., R. M. Costas and L. V. Pereira. 2015. Searching for naïve human pluripotent stem cells. *World J. Stem Cells* 7: 649–656.

Freitas, B. C., C. A. Trujillo, C. Carromeu, M. Yusupova, R. H. Herai and A. R. Muotri. 2014. Stem cells and modeling of autism spectrum disorders. *Exp. Neurol.* 260: 33–43.

Gafni, O. and 26 others. 2013. Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells. *Nature* 504: 282–286.

Greenbaum A. and 7 others. 2013. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature* 495: 227–230.

Harris, J., G. S. Tomassy and P. Arlotta. 2015. Building blocks of the cerebral cortex: From development to the dish. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 4: 529–544.

Imayoshi, I. and 8 others. 2013. Oscillatory control of factors determining multipotency and fate in mouse neural progenitors. *Science* 342: 1203–1208.

Katsimpardi, L. and 9 others. 2014. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. *Science* 344: 630–634.

Kim, N. G., E. Koh, X. Chen and B. M. Gumbiner. 2011. E-cadherin mediates contact inhibition of proliferation through Hippo signaling-pathway components. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 11930–11935.

Lancaster, M. A. and J. A. Knoblich. 2014. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies. *Science.* doi: 10.1126/science.1247125.

Lancaster, M. A. and 9 others. 2013. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 501: 373–379.

Le Bin, G. C. and 11 others. 2014. Oct4 is required for lineage priming in the developing inner cell mass of the mouse blastocyst. *Development* 141: 1001–1010.

Lim, D. A. and A. Alvarez-Buylla. 2014. Adult neural stem cells stake their ground. *Trends Neurosci.* 37: 563–571.

Méndez-Ferrer, S. and 10 others. 2010. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 466: 829–834.

Ottone, C. and S. Parrinello. 2015. Multifaceted control of

adult SVZ neurogenesis by the vascular niche. *Cell Cycle* 14: 2222–2225.

Spradling, A., M. T. Fuller, R. E. Braun and S. Yoshida. 2011. Germline stem cells. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a002642.

Snippert, H. J. and 10 others. 2010. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell* 143: 134–144.

Stephenson, R. O., J. Rossant and P. P. Tam. 2012. Intercellular interactions, position, and polarity in establishing blastocyst cell lineages and embryonic axes. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a008235.

Xie, T. and A. C. Spradling. 1998. *decapentaplegic* is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary. *Cell* 94: 251–260.

Yan, D. and 16 others. 2014. A regulatory network of *Drosophila* germline stem cell self-renewal. *Dev. Cell* 28: 459–473.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 6 章

性别决定和配子发生

这只鸡怎么能变成半侧母鸡和半侧公鸡？



“有性生殖是……大自然的杰作”，伊拉斯谟斯·达尔文（查理·达尔文的祖父）在 1791 年这样写道。雄性和雌性后代由均等和同等活跃的基因所引导的过程产生，两种后代之间没有“高等”或“低等”、“伟大”或“渺小”之分。在哺乳动物和果蝇中，个体的性别是在配子（即精子和卵子）结合时决定的。然而，正如我们将会看到的那样，还有其他的性别决定方式，其中，一些物种的动物既是雄性也是雌性（既产生精子也产生卵子），另有环境决定一个个体性别的方式。配子是独立于体细胞谱系的**生殖细胞系或种系**（**germ line**）的产物，因为体细胞谱系通过有丝分裂以产生发育个体中的分化体细胞。生殖细胞经历减数分裂，这是一种特殊的细胞分裂进程，使得一个细胞中的染色体含量减半，以致受精时两个配子的结合能恢复一个新生物体的完整染色体含量。有性生殖意味着每个新生物体获得来自两个不同亲本的

要点

在脊椎动物和节肢动物，性别由染色体决定。在哺乳动物，Y 染色体上的 *Sry*(Y 染色体性别决定区) 基因将双潜能的生殖腺转变成睾丸 (并阻止卵巢发育)，而两条 X 染色体的继承能激活 β－联蛋白，将双潜能的生殖腺转变成卵巢 (并防止睾丸形成)。在果蝇，X 染色体的数目调节 *Sxl*(性别致死) 基因，使得特定核 RNA 被差异性地剪接成雄性或雌性特异的 mRNA。在哺乳动物，睾丸分泌一些激素，如睾酮和抗苗勒氏管激素。第一种激素建立雄性表型，第二种激素阻断雌性表型。卵巢合成一些建立雌性表型的雌激素；它们也分泌孕酮以维持妊娠。在所有物种中，生殖腺能指令配子发生，即生殖细胞的发育。进入卵巢的哺乳动物生殖细胞还处在胚胎时就起始减数分裂并变成卵母细胞。进入哺乳动物睾丸的生殖细胞被阻止进入减数分裂，但它们分裂产生一个干细胞群体，在青春期将形成精子。还有一些动物的性别受一些环境因素 (如温度) 决定。

遗传物质，并且减数分裂机制提供了大量的能支持进化的基因组变异。

配子发生和受精既是生命周期的结束，也是生命周期的起始。这一章描述一个生物个体的性别是如何确定的，这相应地将决定这个个体的配子将变成精子或卵子。

6.1 染色体性别决定

染色体能通过几种方式决定一个胚胎的性别。在哺乳动物，第二条 X 染色体或一条 Y 染色体的存在决定胚胎将是雌性（XX）还是雄性（XY）。在鸟类，这种情况正好相反（Smith and Sinclair 2001）：雄性具有两条相似的性染色体（ZZ），而雌性具有不配对的两条性染色体（ZW）。在果蝇，Y 染色体不具有性别决定的作用，但 X 染色体的数目似乎决定了性别表型。在其他昆虫（特别是蜜蜂、黄蜂和蚂蚁等膜翅类昆虫），已受精的二倍体受精卵发育成雌性，而未受精的单倍体卵子发育成雄性（Beukeboom 1995；Gempe et al. 2009）。这一章仅讨论许多染色体性别决定方式中的两种：胎盘哺乳动物的性别决定和果蝇的性别决定。

网络话题 6.1 **性别决定和社会观念** 在并不遥远的过去，雌性特征被认为是“默认状态”，而雄性则被认为是驱动进一步发育的基因产生了“更多的东西”。

6.2 哺乳动物的性别决定图式

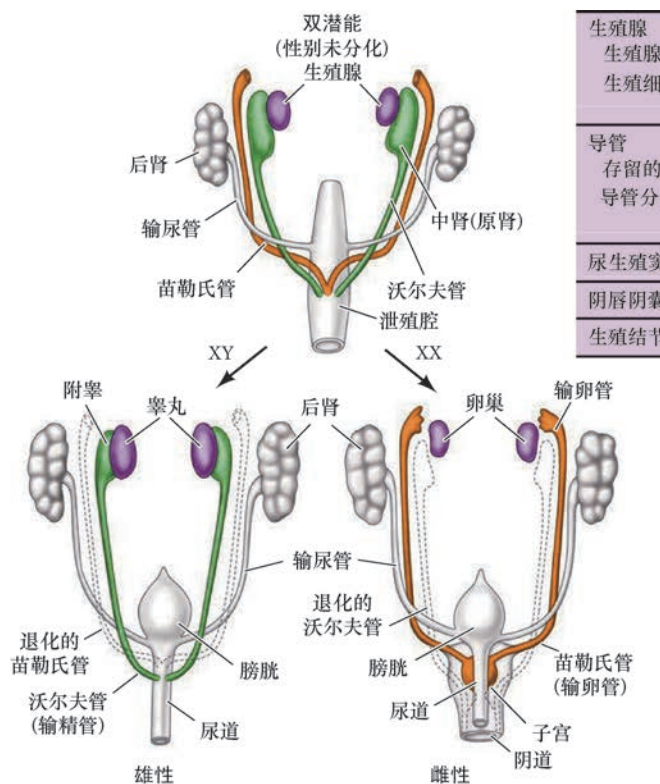
哺乳动物的性别决定受控于生殖腺形成基因和生殖腺分泌的激素。**初级性别决定**（**primary sex determination**）是生殖腺的决定，即形成卵子的卵巢或形成精子的睾丸。**次级性别决定**（**secondary sex determination**）是生殖腺产生的激素对雄性或雌性表型的决定。卵巢和睾丸的形成是一个活跃的基因引导过程。雄性和雌性的生殖腺来自共同的前体（图 6.1），即**双潜能生殖腺**（**bipotential gonad**），有时称为**未分化生殖腺**（**indifferent gonad**）。

在哺乳动物，初级性别决定受控于生物体是否具有一个 XX 或一个 XY 核型。在大多数情况下，雌性的核型是 XX，而雄性的核型是 XY。每个个体必须携带至少一条 X 染色体。由于二倍体的雌性是 XX，它的每个单倍体卵都有一条 X 染色体。雄性是 XY，产生两种单倍体精子群体：一半携带一条 X 染色体，另一半携带一条 Y 染色体。在受精时，如果卵子从精子接收第二条 X 染色体，这样产生的个体是 XX，并将形成卵巢，变为雌性；如果卵子从精子接收一条 Y 染色体，这样的个体是 XY，将形成睾丸，变为雄性（图 6.2A；Stevens 1905；Wilson 1905；见 Gilbert 1978）。

Y 染色体携带一个编码**睾丸决定因子**（**testis-determining factor**）的基因，这个因子将双潜能的生殖腺组织成睾丸。这在 1959 年被证明，核型分析显示 XXY 个体（一种称为克兰费尔特综合征或细精管发育障碍的状态）是雄性（尽管有两条 X 染色体），而仅有一条 X 染色体（XO，有时称为特纳综合征或先天性卵巢发育不全）的个体是雌性（Ford et al. 1959；Jacobs and Strong 1959）。XXY 男性具有功能性的睾丸。具有单条 X 染色体的女性最初能形成卵巢，但是因为没有第二条 X 染色体，卵泡不能得以维持。因此，第二条 X 染色体使卵巢完成发育，而一条 Y 染色体（即使同时存在多条 X 染色体）就能起始睾丸的发育。

即使是多于一条 X 染色体，Y 染色体也能引导睾丸形成的原因可能是一个时间的问题。在生殖腺的发育期间看似有一个关键的时机窗口，在此期间，睾丸决定因子（现在已知是 *Sry* 基因的产物）可以发挥功能。如果 *Sry* 基因表达，它通常在此期间促进睾丸形成并抑制卵巢的形成。如果 *Sry* 基因不表达（或者它在适当的时间不能发挥作用），那么形成卵巢的基因将会行使它们的功能（图 6.2B；Hiramatsu et al. 2009；Kashimada and Koopman 2010）。

一旦初级（染色体）性别决定建立了生殖腺，生殖腺就开始产生一些激素和旁分泌因子，控制次级



生殖腺		
生殖腺类型	睾丸	卵巢
生殖细胞位置	睾丸索内部(睾丸髓质)	卵巢皮质的卵泡内部
导管		
存留的导管	沃尔夫管	苗勒氏管
导管分化	输精管、附睾、精囊	输卵管、子宫、子宫颈、阴道上部
尿生殖窦	前列腺	Skene腺
阴唇阴囊皱褶	阴囊	大阴唇
生殖结节	阴茎	阴蒂

图 6.1　哺乳动物性腺及其导管的发育。最初，一个双潜能（未分化）生殖腺具有未分化的苗勒氏管（雌性）和沃尔夫管（雄性）。如果是 XY 染色体，生殖腺将变成睾丸并保留沃尔夫管。如果是 XX 染色体，生殖腺将变成卵巢并维持苗勒氏管。生殖腺分泌的激素将使外生殖器或向雄性（阴茎、阴囊）发育或向雌性（阴蒂、大阴唇）发育。

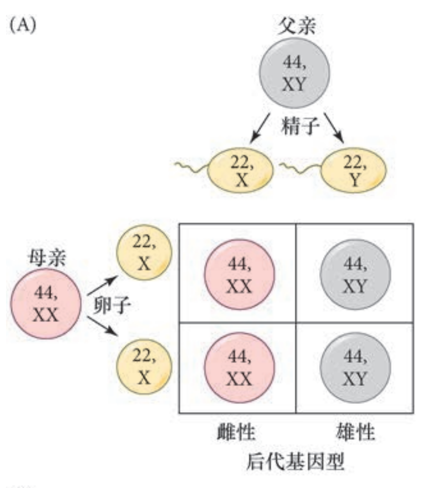
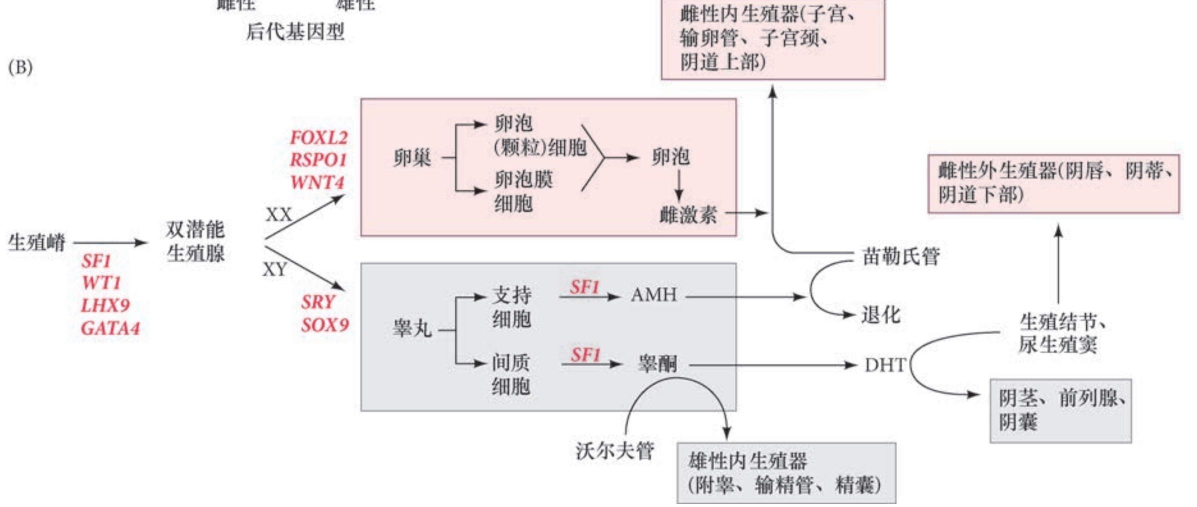


图 6.2　胎盘哺乳动物的性别决定。(A) 哺乳动物染色体性别决定产生大致相等数量的雄性和雌性后代。(B) 在哺乳动物中引起雄性和雌性表型的假设级联反应。除其他因素之外，生殖嵴转变为双潜能的生殖腺需要 *Sf1*、*Wt1* 和 *Lhx9* 基因；缺失任何一个基因的小鼠不能形成生殖腺。双潜能的生殖腺看似通过 *Foxl2*、*Wnt4* 和 *Rspo1* 基因的作用进入雌性途径（卵巢发育），而通过 *Sry* 基因（位于 Y 染色体）的作用（激活 *Sox9* 的活性）进入雄性途径（睾丸发育）。雄性生殖腺中也表达较低水平的 Wnt4。卵巢形成的卵泡膜细胞和卵泡细胞（或称为颗粒细胞）共同合成雌激素。在雌激素（首先来自母亲，然后来自胎儿的生殖腺）的影响下，苗勒氏管分化为雌性生殖道，内部和外部生殖器开始发育，后代发育出雌性的第二性征。睾丸产生两种主要的激素，参与性别决定。第一种是抗苗勒氏管激素 (AMH)，引起苗勒氏管退化。第二种是睾酮，使沃尔夫管分化为雄性内生殖器。在泌尿生殖区域，睾酮被转化为双氢睾酮 (DHT)，引起阴茎和前列腺的形态发生 (B 图参考 Marx 1995；Birk et al. 2000)。



性别决定，即生殖腺之外的性别表型的发育。这包括雄性或雌性导管系统和外生殖器。雄性哺乳动物有阴茎、阴囊（睾丸囊）、精囊和前列腺。雌性哺乳动物有子宫、输卵管、子宫颈、阴道、阴蒂、阴唇和乳腺[1]。在许多物种，每个性别也具有性别特异的体型、声带软骨和肌肉组织。第二性征通常由生殖腺分泌的一些激素和旁分泌因子决定。在没有生殖腺的情况下似乎能产生雌性表型。Jost（1947，1953）在生殖腺分化之前去除了兔胎儿的生殖腺，这样获得的兔子具有雌性表型，不管它们的基因型是 XX 还是 XY。

初级性别决定的整体框架如图 6.2B 所示。如果胚胎细胞有两条 X 染色体而没有 Y 染色体，那么生殖腺原基将发育成卵巢。卵巢产生**雌激素**（**estrogen**），这是一个能够促进**苗勒氏管**（**Müllerian duct**）发育成子宫、输卵管、子宫颈和阴道上部的激素（Fisher et al. 1998；Couse et al. 1999；Couse and Korach 2001）。如果胚胎细胞含有 X 和 Y 染色体，睾丸就会形成并分泌两个主要因子。第一个是转化生长因子 -β 家族的旁分泌因子，称为**抗苗勒氏管激素**（**anti-müllerian hormone，AMH**），有时称为**苗勒氏管抑制因子**（**Müllerian-inhibiting factor，MIF**）。AMH 破坏苗勒氏管，从而阻止子宫和输卵管的形成。第二个因子是类固醇激素**睾酮**（**testosterone**）。这个激素使胎儿雄性化，刺激阴茎、雄性导管、阴囊和雄性解剖结构其他部分的形成，以及抑制乳腺原基的发育。

发育辅导课 **哺乳动物的性别决定** Scott Gilbert 概述哺乳动物性别决定的框架。

6.3 哺乳动物的初级性别决定

哺乳动物的生殖腺表现出独特的胚胎学状态。所有其他器官原基通常只能分化为一种类型的器官，一个肺原基只能变成肺、一个肝原基只能发育成肝。然而，生殖腺原基有两个选择：发育成一个卵巢或者一个睾丸，这两个器官具有非常不同的组织结构。生殖腺原基所采用的分化途径受控于基因型，并决定生物体未来的性别发育（Lillie 1917）。但在做出这一决定之前，哺乳动物的生殖腺首先经过一个双潜能或未分化的时期，在此期间它既没有雌性也没有雄性特征（见图 6.1）。

6.3.1 发育中的生殖腺

在人类，两个生殖腺原基在第 4 周出现，并且直到第 7 周仍旧保持性别未分化状态。这些生殖腺前体是中胚层的成对区域，邻近正在发育的肾（Tanaka and Nishinakamura 2014；**图 6.3A，B**）。**生殖细胞**（**germ cell**），即精子或卵子的前体，在第 6 周迁移到生殖腺中并被中胚层细胞包围。

如果胎儿是 XY，中胚层细胞继续增殖至第 8 周，这时，其中的一部分开始向**支持细胞**（**Sertoli cell**）分化。在胚胎发育过程中，发育中的支持细胞分泌阻止雌性导管发育的抗苗勒氏管激素。这些相同的支持上皮细胞也将形成生精小管，在雄性哺乳动物的整个生命过程中维持精子的发育。

在第 8 周期间，发育中的支持细胞环绕进入其中的生殖细胞并将自身组织成**睾丸索**（**testis cord**）。这些索在发育中的睾丸中心区域形成一些环，并且在发育中的肾管附近连接到称为**睾丸网**（**rete testis**）的细管网络（**图 6.3C，D**）。因此，当生殖细胞进入雄性生殖腺时，它们将在睾丸索内发育，位于器官的内部。 在发育的后期（在人类是青春期；在生殖更快的小鼠是出生后不久），睾丸索开始成熟以形成**生精小管**（**seminiferous tubule**）。生殖细胞迁移到这些小管的外围，在那里它们建立精原干细胞群体，在雄性的整个生命过程中产生精子（见图 6.21）。在成熟的生精小管中，精子通过睾丸网从睾丸内被转运出来，而睾丸网与**输出小管**（**efferent duct**）相连接。输出小管是肾发育过程中的重塑小管。在雄性发育过程中，沃尔夫管分化成位于睾丸附近的**附睾**（**epididymis**）和**输精管**（**vas deferens**），精子通过这个管进入尿道并

---

[1] 自然学家林奈（Carolus Linnaeus）在 17 世纪根据这个雌性的次级性别性状命名了哺乳动物。Schiebinger（1993）的文章中对这个决定的政治观点进行了讨论。

排出体外。因此，精子和尿液都将使用尿道离开身体。

同时，另一组中胚层细胞（那些不形成支持上皮的细胞）分化为间充质细胞类型，即分泌睾酮的**间质细胞**（**Leydig cell**）。因此，完全发育的睾丸将具有支持细胞形成的包裹生殖细胞的上皮管，以及分泌睾酮的间充质细胞群体，即间质细胞。每个初期的睾丸被一个厚的细胞外基质（称为白膜）所包围，这对睾丸具有保护作用。

如果胎儿是 XX，位于发育的生殖腺中心的性索退化，而生殖腺表面（皮质）的性索仍被保留下来。每个生殖细胞被一簇性索上皮细胞包裹（图 6.3E，F）。生殖细胞将变成**卵细胞**（**ovum**）或卵子，周围的

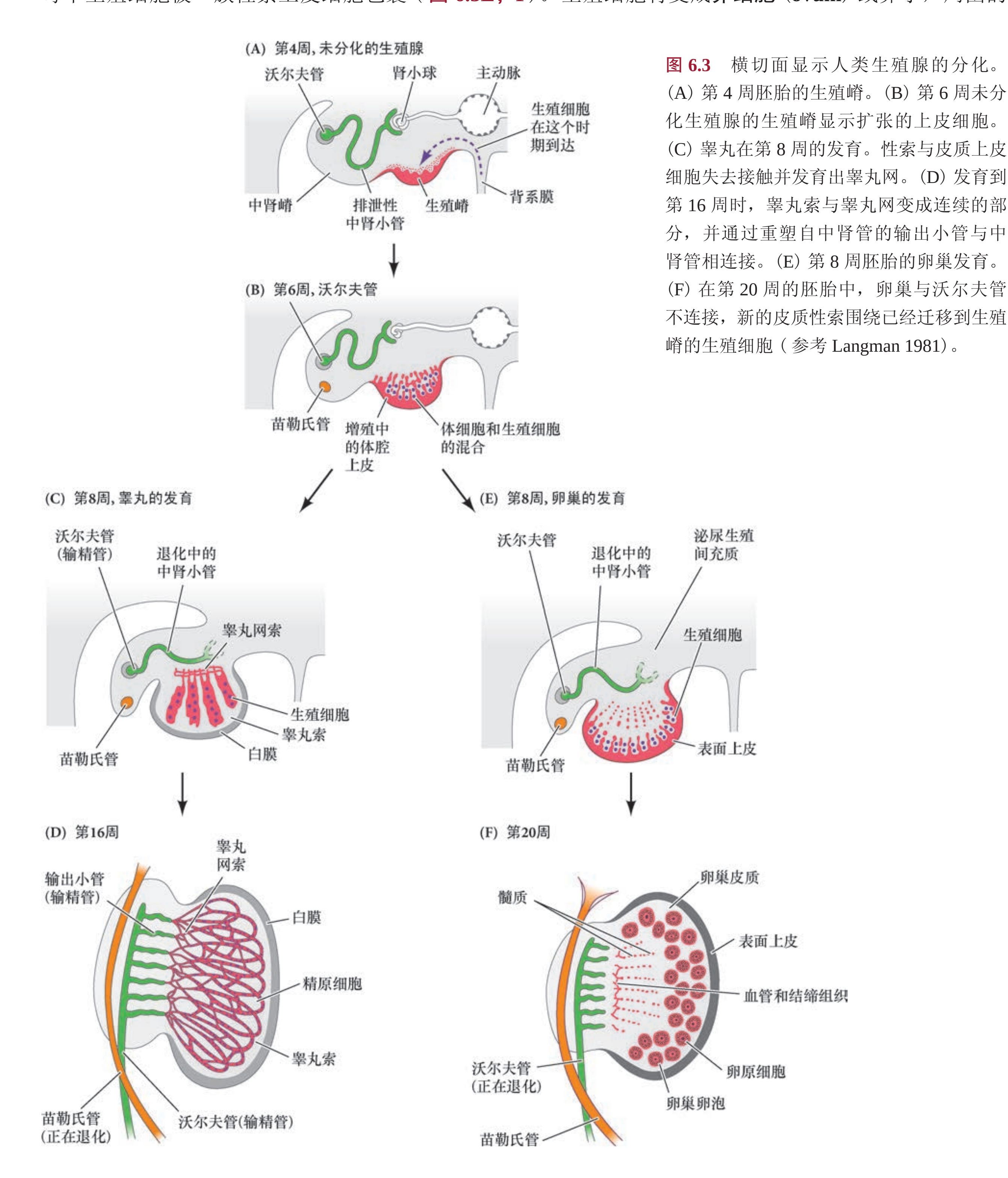


图 6.3　横切面显示人类生殖腺的分化。(A) 第 4 周胚胎的生殖嵴。(B) 第 6 周未分化生殖腺的生殖嵴显示扩张的上皮细胞。(C) 睾丸在第 8 周的发育。性索与皮质上皮细胞失去接触并发育出睾丸网。(D) 发育到第 16 周时，睾丸索与睾丸网变成连续的部分，并通过重塑自中肾管的输出小管与中肾管相连接。(E) 第 8 周胚胎的卵巢发育。(F) 在第 20 周的胚胎中，卵巢与沃尔夫管不连接，新的皮质性索围绕已经迁移到生殖嵴的生殖细胞（参考 Langman 1981）。

皮质上皮细胞将分化成**卵泡细胞**，或称为**颗粒细胞**（**granulosa cell**）。发育的卵巢中其余的间质细胞分化成**卵泡膜细胞**（**thecal cell**）。总的来说，这些卵泡膜细胞和卵泡细胞形成**卵泡**（**follicle**），包围生殖细胞并分泌类固醇激素，如雌激素和（妊娠时）孕酮。每个卵泡都含有一个生殖细胞，即**卵原细胞**（**oogonium**）或卵子前体，这个细胞此时将进入减数分裂。

生殖腺中生殖细胞和体细胞之间有一个互作的关系。生殖细胞最初是双潜能的，能变成精子或卵子。然而，一旦进入雄性或雌性的性索，它们就受到指令，要么开始减数分裂并变成卵子，或者保持减数分裂的休眠状态而变成精原细胞（McLaren 1995；Brennan and Capel 2004）。在 XX 生殖腺中，生殖细胞对卵巢卵泡的维持是必不可少的。如果没有生殖细胞，卵泡将退化成索状的结构并表达雄性特异的标记物。在 XY 生殖腺中，生殖细胞有助于支持细胞的分化，在没有生殖细胞时睾丸索仍将形成，但形成的时间较晚（McLaren 1991）。当卵巢正在形成时，苗勒氏管保持完整（没有受到抗苗勒氏管激素的破坏），并且分化成输卵管、子宫、子宫颈和阴道上部。在没有足够睾酮的情况下，沃尔夫管退化（见图 6.1 和图 6.2）。

6.3.2 初级性别决定的遗传机制：决策

目前已经鉴定出多个人类基因，其功能对于正常的性别分化是必需的。因为性别决定基因突变的表型通常是不育的，所以临床不育的研究有助于鉴别那些在决定人类是否变成男性或者女性时具有活性的基因。验证这些基因功能的一些实验操作可以在小鼠中进行。

这个故事从尚未朝雄性或雌性方向定型的双潜能生殖腺开始。转录因子 Wt1、Lhx9、GATA4 和 Sf1 的基因在这时表达，任何一个基因的功能缺失将阻止雄性或雌性生殖腺的正常发育。然后就做出了这样的决策：

- 如果没有 Y 染色体，这些转录和旁分泌因子被认为能激活 Wnt4 蛋白（在生殖上皮中已经以低水平表达）和 R-spondin1（Rspo1）这个小的可溶性蛋白的进一步表达。Rspo1 与它的细胞膜受体结合后进一步刺激 Wnt 途径中的 Dishevelled 蛋白，使得 Wnt 途径更有效地产生 β- 联蛋白转录调节物。在生殖腺细胞中 β- 联蛋白的多种功能之一是进一步激活 Rspo1 和 Wnt4 的基因，从而在这两种蛋白质之间建立一个正反馈回路。β- 联蛋白的第二个作用是通过激活参与卵泡细胞分化的那些基因来启动卵巢发育途径。它的第三个作用是防止 Sox9 的表达，而 Sox9 是一个对睾丸决定有关键作用的蛋白质（Maatouk et al. 2008；Bernard et al. 2012）。
- 如果有一条 Y 染色体，双潜能生殖腺中相同的一组因子将激活 Y 染色体上的 *Sry* 基因。Sry 蛋白结合 *Sox9* 基因的增强子，增高这一关键基因在睾丸决定途径中的表达（Bradford et al. 2009b；Sekido and Lovell-Badge 2009）。Sox9 和 Sry 也可能通过抑制 β- 联蛋白来阻断卵巢形成途径（Bernard et al. 2008；Lau and Li 2009）。

图 6.4 显示初级性别决定如何能够被启动的一个可能模型。在这里我们看到动物发育的一个重要规则：一个细胞特化途径通常有两个组成部分，一个分支说“制造 A”，另一个分支说“…不要制造 B”。对于生殖腺而言，雄性途径说“生成睾丸，不要形成卵巢”，而雌性途径却说“生成卵巢，不要形成睾丸”。

6.3.3 卵巢途径：Wnt4 和 R-spondin1

在小鼠中，旁分泌因子 **Wnt4** 在双潜能的生殖腺中表达，但是在变成睾丸的 XY 生殖腺中不再表达，而它的表达却一直维持在开始形成卵巢的 XX 生殖腺。在缺失 *Wnt4* 基因的 XX 小鼠中，卵巢不能正确形成，细胞过渡性地表达睾丸特异性标志物，包括 Sox9、睾酮形成酶和抗苗勒氏激素（Vainio et al. 1999；Heikkilä et al. 2005）。因此，Wnt4 似乎是卵巢形成的重要因子，虽然不是唯一的决定因子。

R-spondin1（**Rspo1**）对卵巢的形成有关键的作用，因为在人类病例的研究中，一些携带 *RSPO1* 基因突变的 XX 个体表现为雄性表型（Parma et al. 2006）。Rspo1 与 Wnt4 协同作用，产生 β- 联蛋白，而 β- 联蛋白似乎对激活卵巢的进一步发育和阻断睾丸决定因子 Sox9 的合成有关键的作用（Maatouk et al. 2008；

Jameson et al. 2012）。在一些 XY 个体中，1 号染色体上的一个重复区域含有 *WNT4* 和 *RSPO1* 基因，这使产生 β- 联蛋白的途径超越雄性途径，导致雄性向雌性的性逆转。类似地，如果在 XY 小鼠的生殖腺原基中高表达 β- 联蛋白，它们将形成卵巢而不是睾丸。的确，β- 联蛋白在所有脊椎动物类群中似乎是关键的“促卵巢 / 抗睾丸”信号分子，这在鸟类、哺乳动物和海龟的雌性（而不是雄性）的生殖腺中都得到了证明。这三个种群具有非常不同的性别决定方式，但它们的卵巢都合成 Rspo1 和 β- 联蛋白（**图 6.5**；Maatouk et al.2008；Cool and Capel 2009；Smith et al. 2009）。

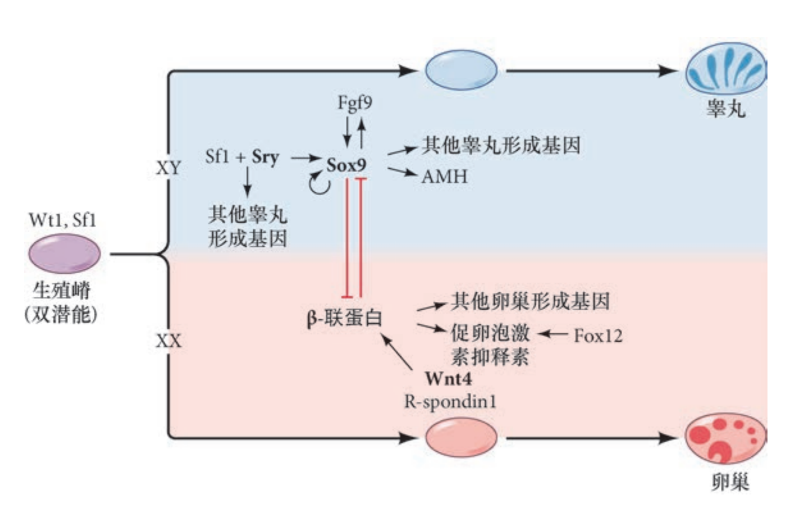
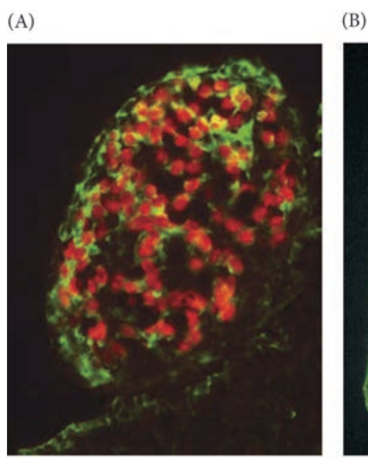


图 6.4　哺乳动物中启动初级性别决定的可能机制。虽然我们还不知道其中所涉及的特定相互作用，但这个模型试图将一些数据组织成一个逻辑次序。如果 Sry 不表达（粉红色区域），发育的生殖嵴中一些旁分泌和转录因子之间的相互作用将激活 *Wnt4* 和 *Rspo1*。Wnt4 激活经典 Wnt 途径，Rspo1 进一步活化这一途径。Wnt 途径导致 β- 联蛋白的积累，大量积累的 β- 联蛋白进一步刺激 Wnt4 的活性。β- 联蛋白的连续生产既诱导卵巢生成基因的转录，也通过干扰 Sox9 的活性而阻断睾丸决定途径。如果 Sry 表达（蓝色区域），它可能阻断 β- 联蛋白信号转导（从而停止形成卵巢），并与 Sf1 共同激活 *Sox9* 基因。Sox9 激活成纤维细胞生长因子 -9（Fgf9）的合成，而 Fgf9 能刺激睾丸发育并进一步促进 Sox9 的合成。Sox9 还可以阻止 β- 联蛋白对卵巢形成基因的激活。Sry 也可以激活有助于产生支持细胞的其他基因（如 *TCF21* 和 *NT3*）。总之，Wnt4/β- 联蛋白回路特化卵巢，而 Sox9/Fgf9 回路特化睾丸。Wnt 途径的靶点之一是促卵泡激素抑释素的基因，其产物组织卵巢的卵泡细胞。在卵巢中被激活的转录因子 Foxl2（以未知的方式）也参与诱导促卵泡激素抑释素的合成。XY 途径似乎启动得较早；如果这个途径不能发挥功能，XX 途径将会取而代之。Steroidogenic factor 1（Sf1）：类固醇生成因子 -1；Fgf9：成纤维细胞生长因子 -9；AMH：抗苗勒氏管激素（参考 Sekido and Lovell-Badge2009；McClelland et al. 2012）。

一些被 β- 联蛋白激活的转录因子的基因仅在卵巢表达。β- 联蛋白的一个可能靶点是编码 TAFII-105 蛋白的基因（Freiman et al. 2002）。这个转录因子亚基（帮助 RNA 聚合酶与启动子结合）仅表达在卵泡细胞。缺失这个亚基的雌性小鼠具有较小的卵巢，只有极少（如果有的话）成熟的卵泡。转录因子 Foxl2 是在卵巢中显著上调的另一个蛋白质，*Foxl2* 等位基因的纯合突变体 XX 小鼠发育出雄性样的生殖腺结构，并上调 *Sox9* 基因的表达及睾酮的产生。Foxl2 和 β- 联蛋白对激活促卵泡激素抑释素的基因都有关键的作用（Ottolenghi et al. 2005；Kashimada et al. 2011；Pisarska et al. 2011）。作为转化生长因子 -β 家族旁分泌因子的抑制物，促卵泡激素抑释素被认为是一个参与将卵巢的上皮组织成卵泡细胞的蛋白质（Yao et al. 2004）。发育的生殖腺中缺失促卵泡激素抑释素的 XX 小鼠发生部分性逆转，形成睾丸样的结构。

(A)



(B)

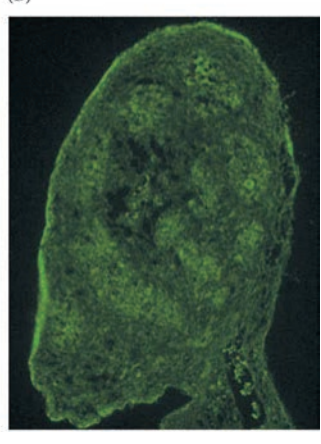


图 6.5　Rspo1 蛋白在第 14.5 天小鼠胚胎生殖腺中的定位。使用免疫荧光探针鉴别 Rspo1（绿色）和减数分裂生殖细胞标志物 Scp3（红色）。（A）Rspo1 表达在卵巢的体细胞和生殖细胞表面。（B）这些抗体显示发育的睾丸既不表达 Rspo1，也不表达 Scp3。雄性生殖腺中的生殖细胞在这个发育时期尚未进入减数分裂，而卵巢的生殖细胞已经进入减数分裂（来自 Smith et al. 2008；照片由 C. Smith 提供）。

Wnt4/R-spondin 信号也上调许多其他转录因子的表达（Naillat et al. 2015）。我们才刚开始了解卵巢形成途径的一些成分是如何被整合在一起的。

与卵巢构建的重要性一样，卵巢结构的维持也至关重要。类似地，睾丸表型的维持与其初始的构建也同等重要。很明显，生殖腺的组织化在整个生命过程中并不稳定，没有适当基因的表达，雌性卵泡能变成雄性小管，而雄性小管能变成雌性卵泡。在雌性中，卵巢特征的维护物可能是 Foxl2（Uhlenhaut et al. 2009）。在成年阶段的卵巢中去除 Foxl2 时，*Sox9* 基因变得活跃，卵巢被转变成睾丸。

6.3.4 睾丸途径：Sry 和 Sox9

SRY*：Y 染色体性别决定基因** 在人类，睾丸决定的主要基因位于 Y 染色体的短臂上。通过分析罕见的 XX 雄性和 XY 雌性（即基因型是一种性别但表型是另一种性别的个体）的 DNA，睾丸决定基因的位置被缩小到 Y 染色体上靠近短臂末端的 35 000 个碱基对区域。在这个区域，Sinclair 及其同事（1990）发现了一个雄性特异的 DNA 序列，编码含有 223 个氨基酸的蛋白质。这个基因被称为 **Y 染色体性别决定区**（Sry***），并且有大量的证据表明它的确是编码人的睾丸决定因子的基因。

Sry 存在于正常的 XY 雄性及罕见的 XX 雄性，正常的 XX 雌性和许多 XY 雌性没有这个基因。大约 15% 的人类 XY 雌性有 *SRY* 基因，但是这些雌性的 *SRY* 基因拷贝含有点突变或移码突变，阻止了 Sry 蛋白结合 DNA（Pontiggia et al. 1994；Werner et al. 1995）。如果 *SRY* 基因的确编码主要的睾丸决定因子，那么就可以预测它在睾丸分化之前或分化过程中作用于未分化的生殖腺。在针对小鼠同源基因的研究中证明了这一推测。小鼠的 *Sry* 基因也与睾丸的出现相关；它存在于 XX 雄性，但不存在于 XY 雌性（Gubbay et al. 1990）。Sry 表达在 XY 小鼠双潜能生殖腺中的体细胞，在这些细胞分化成支持细胞之前；随后，Sry 变不再表达（Koopman et al. 1990；Hacker et al. 1995；Sekido et al. 2004）。

Sry 作为睾丸决定因子基因最引人注目的证据来自转基因小鼠。如果 *Sry* 诱导睾丸形成，那么将 Sry 的 DNA 插入到正常 XX 小鼠的合子基因组将会使 XX 小鼠形成睾丸。Koopman 及其同事（1991）将包含 *Sry* 基因（可能还有它的一些调控元件）的 14 kb DNA 区域显微注射到小鼠受精卵的原核。在一些情况下，注射了该序列的 XX 胚胎发育出睾丸、雄性附属器官和一个阴茎[2]（图 6.6）。因此，我们可以得出结论，在哺乳动物中 *Sry/SRY* 是 Y 染色体上睾丸决定的主要基因。

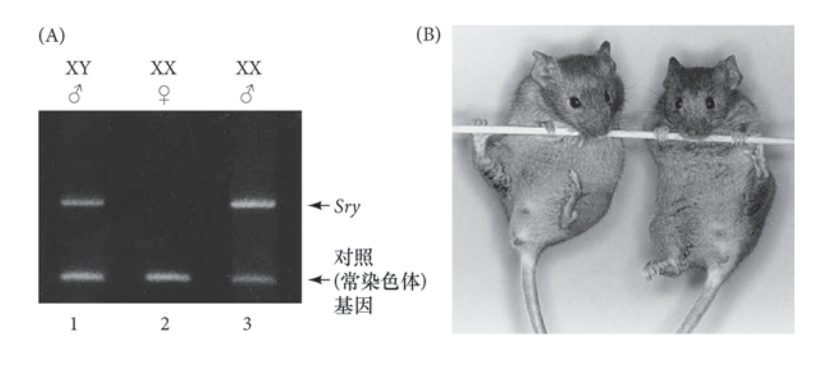


图 6.6 具有 *Sry* 转基因的 XX 小鼠是雄性。（A）聚合酶链反应后的电泳显示 *Sry* 基因存在于正常的 XY 雄性和转基因的 XX/*Sry* 小鼠。同窝的雌性 XX 小鼠没有这个基因。（B）转基因小鼠的外生殖器是雄性（右），与 XY 雄性的外生殖器基本相同（左）（来自 Koopman et al. 1991；照片由作者提供）。

科学家讲座 6.1 Robin Lovell-Badge 博士讨论他显示 *SRY* 基因如何在人类促进睾丸形成的研究。

Sox9*：一个常染色体睾丸决定基因** 尽管对性别决定具有作用，*Sry* 基因在小鼠生殖腺发育过程中的活性可能只持续几个小时。在这段时间内，它合成了 Sry 转录因子，其主要作用似乎是激活 ***Sox9 基因（Sekido and Lovell-Badge 2008；对于 Sry 的其他靶点，见网络话题 6.2）。*Sox9* 是一个常染色体基因，

[2] 但是这些胚胎没有像预期的那样产生功能性的精子。两条 X 染色体的存在阻止 XXY 小鼠和男性的精子形成，而转基因小鼠缺少 Y 染色体的其余部分，其中含有精子发生所需的基因。

参与多个发育过程，最主要的是骨形成。然而，在生殖腺原基中 *Sox9* 诱导睾丸形成。携带一个额外的 *SOX9* 拷贝的 XX 人即使没有 *SRY* 基因也能发育为雄性，而且 *Sox9* 转基因的 XX 小鼠也发育出睾丸（**图 6.7A ～ D**；Huang et al. 1999；Qin and Bishop 2005）。在 XY 小鼠的生殖腺中敲除 *Sox9* 基因导致完全的性逆转（Barrionuevo et al. 2006）。因此，即使有 *Sry* 基因，但如果没有 *Sox9* 基因，小鼠的生殖腺也不能形成睾丸，所以在睾丸形成中，*Sox9* 似乎能够替代 *Sry*。这并不令人特别惊讶；尽管 *Sry* 基因只特异地存在于哺乳动物，但 *Sox9* 却存在于整个脊椎动物门。

的确，*Sox9* 似乎是脊椎动物中最古老和更关键的性别决定基因（Pask and Graves 1999）。在哺乳动物，它被 Sry 蛋白激活；在鸟类、蛙类和鱼类，它似乎被转录因子 Dmrt1 的剂量所激活；而在那些性别决定依赖于温度的脊椎动物中，它通常被产生雄性的温度直接或间接地激活。*Sox9* 基因的表达特异地受到 Sry 和 Sf1 蛋白在支持细胞前体中的组合表达所上调（**图 6.7E ～ H**；Sekido et al. 2004；Sekido and Lovell-Badge 2008）。因此，Sry 可能只是作为一个“开关”，在非常短的时间内激活 *Sox9* 基因，而 Sox9 蛋白可能启动保守的进化途径，使睾丸形成。所以，借用 Eric Idle 的一句话，Sekido 和 Lovell-Badge（2009）提出，Sry 通过“一个眼色和一个轻触”来启动睾丸形成。

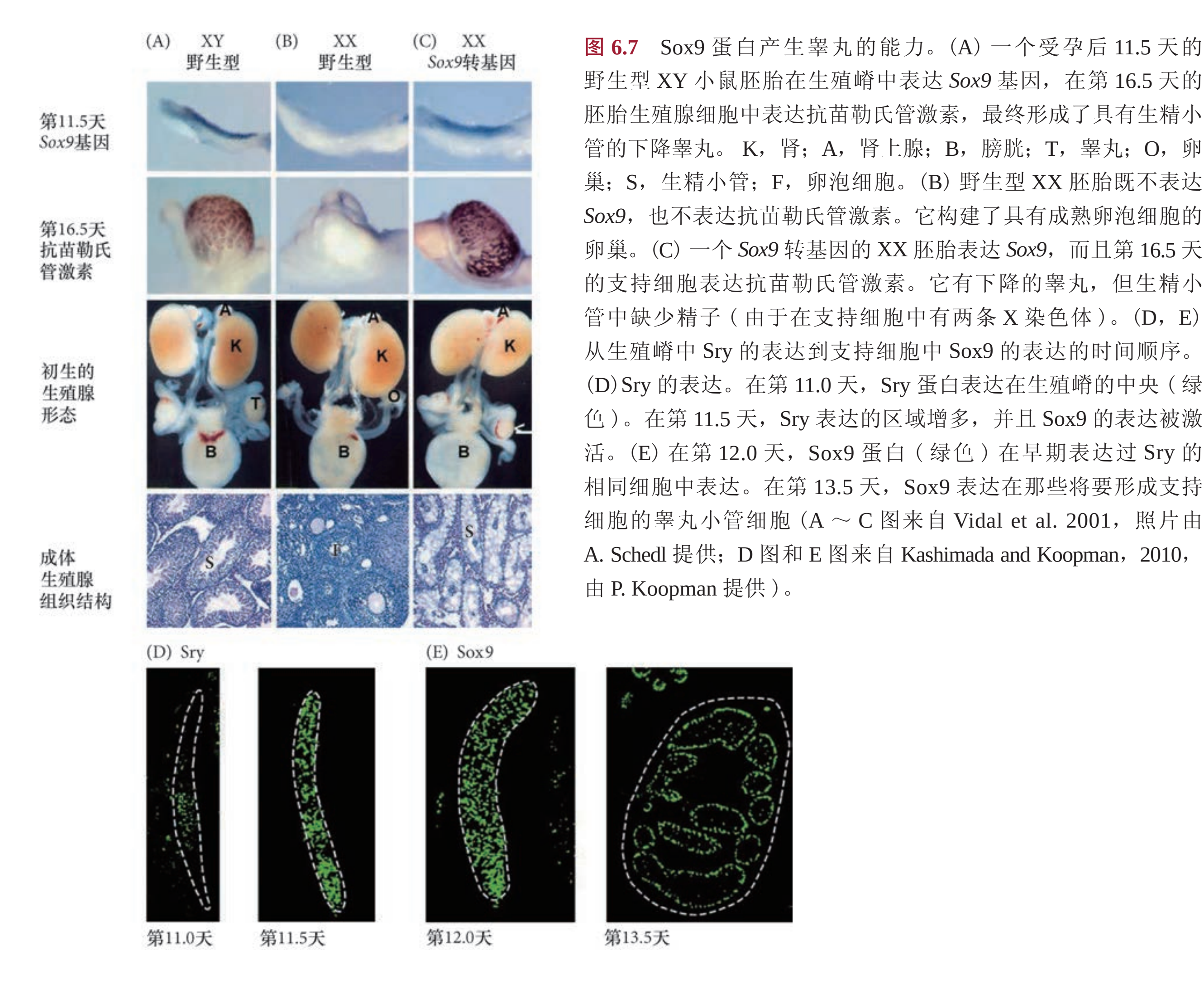


图 6.7　Sox9 蛋白产生睾丸的能力。(A) 一个受孕后 11.5 天的野生型 XY 小鼠胚胎在生殖嵴中表达 *Sox9* 基因，在第 16.5 天的胚胎生殖腺细胞中表达抗苗勒氏管激素，最终形成了具有生精小管的下降睾丸。K，肾；A，肾上腺；B，膀胱；T，睾丸；O，卵巢；S，生精小管；F，卵泡细胞。(B) 野生型 XX 胚胎既不表达 *Sox9*，也不表达抗苗勒氏管激素。它构建了具有成熟卵泡细胞的卵巢。(C) 一个 *Sox9* 转基因的 XX 胚胎表达 *Sox9*，而且第 16.5 天的支持细胞表达抗苗勒氏管激素。它有下降的睾丸，但生精小管中缺少精子（由于在支持细胞中有两条 X 染色体）。(D，E) 从生殖嵴中 Sry 的表达到支持细胞中 Sox9 的表达的时间顺序。(D) Sry 的表达。在第 11.0 天，Sry 蛋白表达在生殖嵴的中央（绿色）。在第 11.5 天，Sry 表达的区域增多，并且 Sox9 的表达被激活。(E) 在第 12.0 天，Sox9 蛋白（绿色）在早期表达过 Sry 的相同细胞中表达。在第 13.5 天，Sox9 表达在那些将要形成支持细胞的睾丸小管细胞（A ～ C 图来自 Vidal et al. 2001，照片由 A. Schedl 提供；D 图和 E 图来自 Kashimada and Koopman，2010，由 P. Koopman 提供）。

Sox9 蛋白具有多种功能。第一，它似乎能够激活自身的启动子，从而使它能被长时间转录。第二，它直接或间接地阻断 β- 联蛋白诱导卵巢形成的能力（Wilhelm et al. 2009）。第三，它结合睾丸生成所需的众多基因的顺式调节区域（Bradford et al. 2009a）。第四，Sox9 结合抗苗勒氏管激素基因的启动子位点，在向雄性表型发育的途径中提供一个关键的环节（Arango et al. 1999；de Santa Barbara et al. 2000）。

第五，Sox9 促进编码成纤维细胞生长因子 -9（*Fgf9*）基因的表达，这是一个对睾丸发育至关重要的旁分泌因子。Fgf9 对于维持 *Sox9* 基因的转录也是必要的，从而建立一个驱动雄性途径的正反馈回路（Kim et al. 2007）。

网络话题 6.2　**发现难以寻找的睾丸决定因子**　正如一位编辑所写的那样：“寻找睾丸决定因子是一个漫长而艰难的过程”。

成纤维细胞生长因子 -9　在小鼠中敲除**成纤维细胞生长因子 -9**（**Fgf9**）的基因时，纯合突变体几乎全部是雌性。Fgf9 蛋白的表达依赖于 Sox9（Capel et al. 1999；Colvin et al. 2001），在睾丸形成中具有多种作用。

1. Fgf9 引起支持细胞前体的增殖并刺激它们的分化（Schmahl et al. 2004；Willerton et al. 2004）。
2. 它激活血管细胞从相邻的肾管迁移到 XY 生殖腺。虽然在正常情况下这是一个雄性特异的过程，但在 Fgf9 中培育 XX 生殖腺导致内皮细胞迁移到其中（图 6.8）。这些血管细胞形成睾丸的主要动脉，并且在诱导支持细胞前体形成睾丸索时发挥一个指令性的作用；如果没有这些血管，睾丸索便不能形成（Brennan et al. 2002；Combes et al. 2009）。
3. 它对维持预定支持细胞中 *Sox9* 基因的表达是必需的，并且能引导支持细胞形成小管。此外，由于它既可以作为自分泌因子也能作为旁分泌因子，Fgf9 通过在组织的所有细胞中增强 *Sox9* 的表达来协调支持细胞的发育（Hiramatsu et al. 2009）。这种“群体效应”在完成睾丸小管的整合组装中可能有重要的作用（Palmer and Burgoyne 1991；Cool and Capel 2009）。
4. 它抑制 Wnt4 信号，否则 Wnt4 将引导卵巢的发育（Maatouk et al. 2008；Jameson et al. 2012）。
5. Fgf9 似乎能帮助协调生殖腺与生殖细胞的决定。正如我们将在本章后面看到的那样，那些注定成为卵子的哺乳动物生殖细胞在进入生殖腺时迅速进行减数分裂，而注定成为精子的生殖细胞将它们进入减数分裂的时间延迟到青春期。Fgf9 是阻止生殖细胞立即进入减数分裂的因子之一，从而将它们置于精子形成的途径（Barrios et al. 2010；Bowles et al. 2010）。

类固醇生成因子 -1：Sry 与雄性发育途径之间的关键环节　转录因子**类固醇生成因子 -1**（**Sf1**）对产生双潜能生殖腺是必要的。但是，尽管在 XX 小鼠胚胎生殖嵴中 Sf1 的水平降低，发育的睾丸中仍然维持很高水平的 Sf1。Sry 被认为能直接或间接地维持 *Sf1* 基因的表达。Sf1 蛋白似乎在雄性化睾丸间质细胞和支持细胞中具有活性。在支持细胞中，Sf1 与 Sry 共同激活 *Sox9*（Sekido and Lovell-Badge 2008），然后与 Sox9 一起升高抗苗勒氏管激素的转录水平（Shen et al. 1994；Arango et al. 1999）。在间质细胞中，Sf1 激活一些编码睾酮生成酶的基因。

科学家讲座 6.2　Blanche Capel 博士讨论她关于哺乳动物性别决定途径的工作。

6.3.5　正确的时间和正确的位置

具有正确的基因不一定意味着你会得到你所期望的器官。在小鼠中的研究表明，一些小鼠品系中的 *Sry* 基因被繁殖到不同的遗传背景时不能产生睾丸（Eicher and Washburn 1983；Washburn and Eicher 1989；Eicher et al. 1996）。这个结果或者是由于 *Sry* 表达的延迟，或者是由于 Sry 蛋白不能积累到触发 *Sox9* 表达和启动雄性途径所需的临界阈值水平。当 *Sox9* 在后来表达时，那已经太晚，生殖腺已经在变成卵巢的路径上走了很远（Bullejos and Koopman 2005；Wilhelm et al. 2009）。

时间的重要性被 Hiramatsu 及其合作者（2009）证实。他们将小鼠的 *Sry* 基因连接到热敏感基因的调控序列上，这样，通过升高胚胎的温度就能在小鼠发育的任何时间激活 *Sry*。他们仅将 *Sry* 的激活延迟 6 h，睾丸便不能形成，而卵巢开始发育（图 6.9）。因此，看似存在一个睾丸形成基因能够发挥功能的短暂窗口，

(A)

第12天的小鼠胚胎

XY (or XX + *Sry*)　XX or XY + *lacZ*　XX (or XY − *Sry*)

去除尿生殖原基

生殖腺

中肾

从中肾分离生殖腺

重组并培养 48 h

(1) *Sry*阳性，使中肾细胞迁移

(2) *Sry*阴性，无中肾细胞迁移

(B)

XX　XX or XY + *lacZ*　XX

\+ Fgf9

(1) 无中肾细胞迁移

(2) Fgf-9，使中肾细胞迁移

(C)

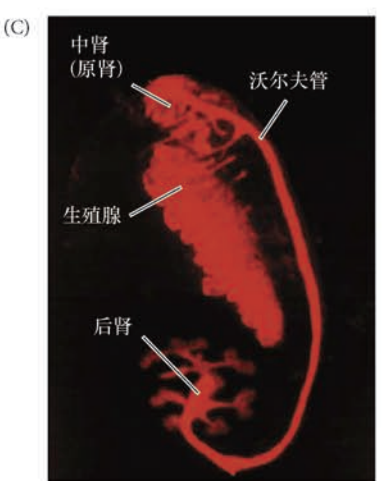


图 6.8　中肾内皮细胞迁移进入 *Sry* 阳性的生殖腺原基。在实验图解中，尿生殖嵴（既含有原始中肾也含有双潜能的生殖腺原基）采集自第 12 天的小鼠胚胎。一些小鼠用每个细胞中都具有活性的 β- 半乳糖苷酶转基因 (*lacZ*) 进行标记。因此，对 β- 半乳糖苷酶进行染色后，这些小鼠的每个细胞都变成蓝色。将生殖腺和中肾分离后，使用未标记小鼠的生殖腺组织和标记小鼠的中肾进行重组。(A) 当生殖腺细胞是 XY 核型或是携带 *Sry* 转基因的 XX 核型时，中肾细胞向生殖腺迁移 (1)。当生殖腺含有 XX 细胞或含有 *Sry* 基因在 Y 染色体上被删除的 XY 细胞时，中肾组织不向生殖腺迁移 (2)。中肾的性染色体不影响这种迁移。(B) 如果用成纤维细胞生长因子 -9(Fgf9) 孵育 XX 小鼠的生殖腺原基，这些原基就能诱导中肾细胞的迁移。(C) 在一个第 16 天的雄性小鼠胚胎中沃尔夫管与发育的生殖腺之间的密切关系。原肾的中肾管将形成睾丸的输出小管和通向输尿管的沃尔夫管。导管和生殖腺用细胞角蛋白 -8 的抗体染色。Sry：Y 染色体性别决定区（A 图和 B 图参考 Capel et al. 1999，照片由 B. Capel 提供；C 图来自 Sariola and Saarma 1999，由 H. Sariola 提供）。

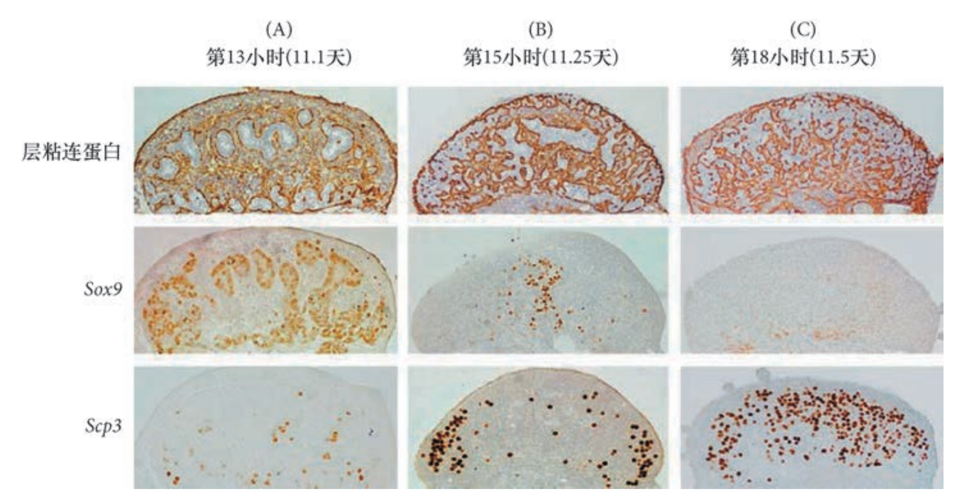


图 6.9 用实验的手段延迟 6 h 激活 *Sry* 基因导致睾丸发育缺陷和卵巢发育的起始。从携带热诱导型 *Sry* 基因的 XX 小鼠中取出生殖嵴，然后在不同时间对这些组织进行热激以激活 *Sry* 基因，再使这些组织成熟。(A) 在发育的 11.1 天（正常情况下 *Sry* 在这个时间被激活）时经历 *Sry* 诱导的那些生殖腺组织产生睾丸。它们的层粘连蛋白分布显示支持细胞、*Sox9*（睾丸发育的标志物）表达，而 *Scp3*（联会复合体蛋白 -3 的基因，卵巢发育的标志物）不表达。(B) 3 h 以后，*Sry* 的激活引起一个中央睾丸区域的形成，外周具有卵巢状的结构。*Sox9* 表达在中央睾丸区域，而 *Scp3* 表达在外围。(C) 如果在 6 h 后激活生殖腺组织中的 *Sry*，这些结构形成卵巢组织，*Sox9* 不表达，而 *Scp3* 表达在整个组织 (Hiramatsu et al. 2009)。

如果错过这个最佳时机，卵巢形成途径就会被激活。

雌雄同体 (**hermaphrodite**) 是既具有卵巢也存在睾丸组织的个体，它们或者具有卵睾（生殖腺含有卵巢和睾丸组织），或者一侧具有卵巢而另一侧具有睾丸 [3]。如图 6.9 所示，卵睾能够在 *Sry* 基因晚于正常情况激活时而形成。雌雄同体也会在极其罕见的一条 Y 染色体易位到一条 X 染色体时出现。在易位的 Y 染色体位于具有活性的一条 X 染色体的组织中，Y 染色体也将具有活性，因此 *SRY* 基因将会被转录；在 Y 染色体位于无活性的 X 染色体的细胞中，Y 染色体也会被失活 (Berkovitz et al. 1992；Margarit et al. 2000)。这种用于表达 *SRY* 的生殖腺镶嵌现象能引起睾丸、卵巢或卵睾的形成，取决于支持细胞前体中表达 *SRY* 的细胞的比例（见 Brennan and Capel 2004；Kashimada and Koopman 2010)。

像 *Foxl2* 基因在整个生命过程中对于维持卵巢的生殖腺功能具有关键作用一样，*Dmrt1* 基因对维持睾丸结构是必需的。在成体小鼠中 *Dmrt1* 的缺失使支持细胞转变为卵巢卵泡细胞。而且，在雌性小鼠卵巢中高表达 Dmrt1 能将卵巢组织重编程为类似支持细胞的细胞 (Lindeman et al. 2015；Zhao et al. 2015)。Dmrt1 蛋白可能是整个动物界中主要的雄性性别诱导物，存在于蝇类、刺胞动物、鱼类、爬行动物和鸟类 (Murphy et al. 2015；Picard et al. 2015)。在哺乳动物，SRY 接管了这个功能。然而，即使在哺乳动物，最近的结果表明 Dmrt1 仍然在雄性性别决定中起重要作用。

科学家讲座 6.3 David Darkower 博士讨论他揭示 Dmrt1 作为雄性性别决定途径中主要参与者的研究。

6.4 哺乳动物的次级性别决定：性别表型的激素调节

初级性别决定，也就是从双潜能的生殖腺形成卵巢或睾丸，并不能产生完整的性别表型。在哺乳动物，次级性别决定是应答卵巢和睾丸分泌的激素时雌性和雄性表型的发育。雌性和雄性的次级性别决定都有

[3] 这种解剖学表型是为赫马佛洛狄忒斯 (Hermaphroditos) 命名的，他是希腊神话中的一个年轻人，他的魅力激起了水仙子萨尔玛西斯 (Salmacis) 的热情。水仙子希望与他永远结合在一起，众神满足了她心愿。雌雄同体通常被认为是本章后面讨论的“雌雄间性”状态之一。

两个主要的时间段。第一阶段出现在器官发生过程中；第二阶段发生在青春期。

在胚胎发育过程中，一些激素和旁分泌信号协调生殖腺与次级性别器官的发育。在雌性中，苗勒氏管在雌激素的作用下被保留下来，分化变成子宫、子宫颈、输卵管和阴道上部（见图 6.2）。**生殖结节**（**genital tubercle**）分化为阴蒂，而**阴唇阴囊皱褶**（**labioscrotal fold**）变成大阴唇。沃尔夫管需要睾酮的维持，因此它们在雌性中萎缩。在雌性中，没有变成膀胱和尿道的**尿生殖窦**（**urogenital sinus**）分化成 Skene 腺，这一对器官产生的分泌物与前列腺的分泌物类似。

雄性表型的协调涉及两种睾丸因子的分泌。第一个是抗苗勒氏管激素，是支持细胞分泌的类似于骨形态发生蛋白的旁分泌因子，能引起苗勒氏管的退化。第二个是类固醇激素睾酮，是胎儿间质细胞分泌的**雄激素**（**androgen**），即雄性化物质。睾酮使沃尔夫管分化成运输精子的导管（附睾和输精管）及精囊（由输精管外突而形成），它也使生殖结节（外生殖器的前体）发育成阴茎，以及使阴唇阴囊皱褶发育成阴囊。在雄性中，尿生殖窦除了形成膀胱和尿道之外，还形成前列腺。

睾酮（以及它的衍生物，就是我们将描述的更高效的双氢睾酮）使生殖结节雄性化的机制可能是它与 Wnt 途径的相互作用（图 6.10）。在双潜能的生殖腺中激活雌性路线的 Wnt 途径能在生殖结节中激活雄性发育（Mazahery et al. 2013）。Wnt 拮抗剂 Dickkopf 在尿生殖隆起中表达，并且能被睾酮下调和被抗雄激素上调。这个发现引出了一个模型，其中，XX 个体的尿生殖隆起表达 Dickkopf，从而阻止 Wnt 途径在间充质中的活性，这样就会阻断雌激素引起的生殖结节的进一步生长和生殖结节的雌性化（Holderegger and Keefer 1986；Miyagawa et al. 2009）。因此，雌性中的生殖结节变成阴蒂，阴唇阴囊褶皱变成大阴唇。但是，在雄性中，睾酮和双氢睾酮结合间充质中的雄激素（睾酮）受体，并阻止 Wnt 抑制物的表达（从而使 Wnt 在间充质中表达）。在这些 Wnt 的影响下，雄性的尿生殖隆起被转变成阴茎和阴囊。

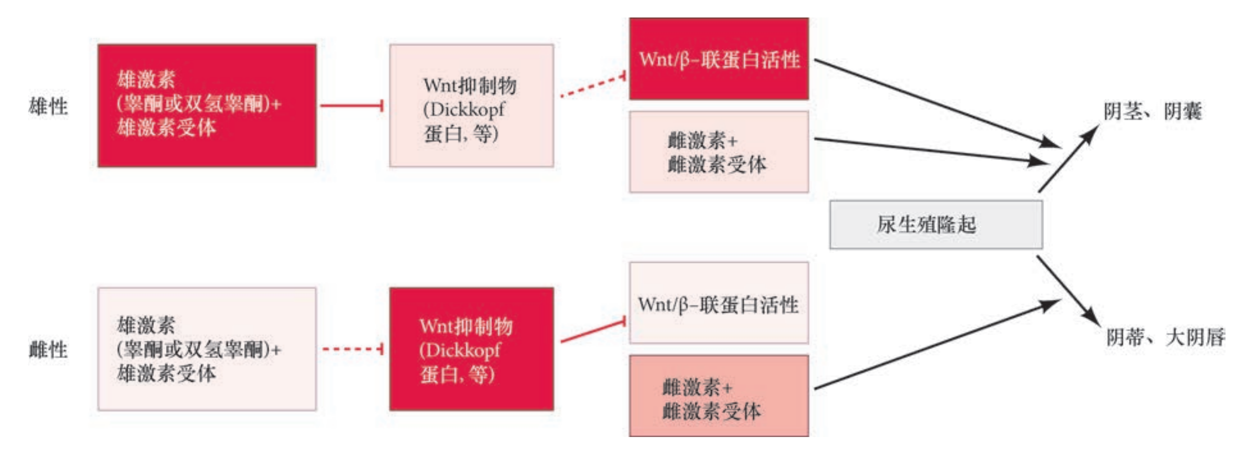


图 6.10　外生殖器形成的模型。在这种模式中，尿生殖隆起中的间充质分泌 Wnt 信号传导的抑制物。如果没有 Wnt 信号传导，雌激素将生殖结节改变成阴蒂，以及将阴唇阴囊褶皱变成环维阴道的大阴唇。然而，在雄性中，雄激素（如睾酮和双氢睾酮）结合间充质细胞中的雄激素受体并阻止 Wnt 抑制物的合成。Wnt 信号转导途径的活化使生殖结节变成阴茎，阴唇阴囊皱褶变成阴囊（参考 Miyagawa et al. 2009）。

网络话题 6.3　**外生殖器的起源**　形成阴茎和阴蒂的细胞只是最近才被鉴别出来。它们的特征有助于解释为什么雄性蛇能有两个阴茎，而一只雌性鬣狗能发育出像雄性阴茎差不多大的阴蒂。

6.4.1　次级性别决定的遗传分析

独立和不相关的抗苗勒氏激素和睾酮途径都能引起雄性化这一现象在**雄激素不敏感综合征**（**androgen insensitivity syndrome**）的人中被证实。这些 XY 个体在染色体水平上是雄性，具有 *SRY* 基因，因此具有产生睾酮和抗苗勒氏管的睾丸。但是在这些个体中，编码结合睾酮并将其带入细胞核的雄激素受体蛋白

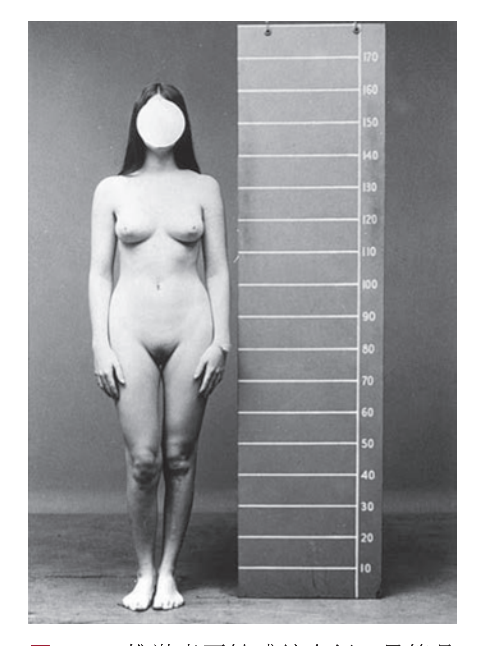


图 6.11 雄激素不敏感综合征。尽管是XY染色体核型，但具有该综合征的个体外观是女性。他们不能应答睾酮，但能对雌激素做出反应，因此他们发育出雌性的第二性征（即阴唇和阴蒂，而不是阴囊和阴茎）。在身体内部，他们缺少苗勒氏管的衍生物和未能下降的睾丸（由C. B. Hammond提供）。

的基因出现了一个突变。因此，他们不能应答自身睾丸产生的睾酮（Meyer et al. 1975；Jääskeluäinen2012）。然而，他们能应答他们的肾上腺所产生的雌激素（这对于XX和XY个体都是正常的情况），所以他们发育出雌性的外部性征（图 6.11）。尽管他们具有明显的雌性外观，但这些XY个体都有睾丸，即使他们不能应答睾酮，他们却能产生并应答抗苗勒氏管激素。因此，他们的苗勒氏管退化。具有雄激素不敏感综合征的人发育成看似正常但是不育的女性，缺少子宫和输卵管，在腹内有睾丸。

尽管在大多数人中，遗传和解剖学性别表型之间具有很高的相关性，但有0.4%～1.7%的人口偏离了严格的二态性状态（Blackless et al. 2000；Hull 2003；Hughes et al. 2006）。在同一个体呈现雄性和雌性性状的表型称为**雌雄间性**（**intersex**）状态[4]。雄激素不敏感综合征是其中一种在传统上被标记为**假两性畸形**（**pseudohermaphroditism**）的雌雄间性状态。在假两性畸形中，只有一种类型的生殖腺（与具有两性生殖腺的真正雌雄同体相反），但第二性征却与生殖腺性别所预期的不同。在人类，雄性假两性畸形（具有雄性生殖腺性别和雌性第二性征）能被雄激素（睾酮）受体或影响睾酮合成的一些突变所导致（Geissler et al. 1994）。

雌性假两性畸形的生殖腺性别是雌性，但外观上是雄性，这能被卵巢或肾上腺产生过量的雄激素所导致。后一种状态的最常见原因是**先天性肾上腺皮质增生**（**congenital adrenal hyperplasia**），其中，在肾上腺内代谢皮质醇的一个酶出现遗传缺陷。在缺失这种酶的情况下，睾酮样的类固醇开始积累并且能结合雄激素受体，从而使胎儿雄性化（Migeon and Wisniewski 2000；Merke et al. 2002）。

睾酮和双氢睾酮 虽然睾酮是两个主要的雄性化因子之一，但有证据表明它在某些组织中不是具有活性的雄性化激素。尽管睾酮参与促进雄性结构（发育自沃尔夫管原基）的形成，但它并不直接使尿道、前列腺、阴茎或阴囊雄性化。这些后期的功能由**5α-双氢睾酮**（**5α-dihydrotestosterone**，**DHT**）所调控（图 6.12）。Siiteri和Wilson（1974）证明，睾酮在尿生殖窦和尿生殖隆起中，而不是在沃尔夫管中被转变成双氢睾酮。双氢睾酮似乎是一个比睾酮更有效的激素，它在出生前和童年早期的活性最高[5]。

Imperato-McGinley和她的同事（1974）在多米尼加共和国一个小群体的几个居民中研究一种表型显著的综合征时，证明了双氢睾酮对雄性生殖腺早期发育的重要性。患有这种综合征的个体缺少一个编码5α-酮类固醇还原酶-2的功能性基因，而这个酶能将睾酮转变成双氢睾酮（Andersson et al. 1991；Thigpen et al. 1992）。具有这种综合征并且染色体为XY的儿童虽然有功能性的睾丸，但这些睾丸一直位于腹内，在出生前也不下降。这些儿童的外观像女孩，并且也被当成女孩抚养。然而，他们的内部解剖结构是雄性：表现出沃尔夫管的发育和苗勒氏管的退化，并具有功能性的睾丸。在青春期，当睾丸产生高水平的睾丸激素时（这似乎能补偿双氢睾酮的缺失），他们的外生殖器能够对激素做出应答并开始分化。这时，阴茎

[4] 用于描述这些状态的“雌雄间性”表达方式还存在争议。一些激进者、医生和家长希望废除“雌雄间性”这个术语，以避免将这些解剖结构状态与一些同一性问题（如同性恋）相混淆。他们更倾向于把这些状态称为“性别发育障碍”。相反，其他激进者不想将这种状态医学化，他们认为“障碍”这个类别会使那些感觉自己没有任何健康问题的个体产生反感。关于间性的更详细分析，见Gilbert et al. 2005，Austin et al. 2011，以及Dreger 2000。

[5] 一些防脱发药的标签告诫妊娠妇女避免使用这种药，这是有原因的。非那司提（Finasteride）是这些产品中的活性成分，能阻止睾酮代谢成双氢睾酮，因此可能干扰雄性胎儿的生殖腺发育。

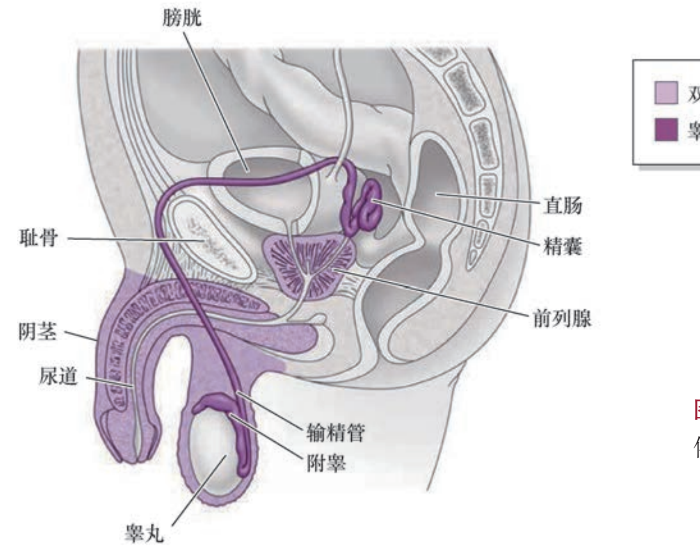


图 6.12　人类雄性生殖器系统的睾酮和双氢睾酮依赖区域（参考 Imperato-McGinley et al. 1974）。

增大，阴囊下降，最初被看作是一个女孩的人却成为一个年幼的男性。对这种状态的研究产生了目前的观点，即外生殖器的形成受控于双氢睾酮，而沃尔夫管的分化受睾酮本身的调控。

网络话题 6.4　**睾丸下降**　双氢睾酮和来自间质细胞的胰岛素样激素在人类妊娠的第 10 周左右起始睾丸下降。

抗苗勒氏管激素　抗苗勒氏管激素是转化生长因子 -β 家族的生长和分化因子成员，由胎儿的支持细胞分泌并导致苗勒氏管退化（Tran et al. 1977；Cate et al. 1986）。抗苗勒氏管激素被认为能结合苗勒氏管周围的间充质细胞，使这些细胞分泌一些引起导管上皮细胞凋亡并分解导管周围基底膜的因子（Trelstad et al. 1982；Roberts et al. 1999，2002）。

雌激素　类固醇激素雌激素对苗勒氏管和沃尔夫管完成出生后的发育是必需的，它们对于雄性和雌性的生育力也是必要的。在雌性中，雌激素诱导苗勒氏管分化成子宫、输卵管、子宫颈和阴道上部。在雌激素受体基因被敲除的雌性小鼠中，生殖细胞在成年期死亡，包裹它们的卵泡细胞开始发育成支持细胞样的细胞（Couse et al. 1999）。雌激素受体的基因被敲除的雄性小鼠产生很少的精子。雄性输出小管细胞（将精子从生精小泡带入附睾）的功能之一是从睾丸索的腔中吸收大部分水。这种由雌激素调节的吸收能浓缩精子，使精子具有更长的寿命，并且为每次射精提供更多的精子。如果雄性小鼠缺失雌激素或其受体，那么水就不能被吸收，小鼠也因此不育（Hess et al. 1997）。虽然雌性的雌激素在血液中的浓度通常高于雄性，但睾丸网中雌激素的浓度高于雌性血液中的浓度。

总之，哺乳动物中的初级性别决定是由染色体调节的，这使 XY 个体产生睾丸，而 XX 个体产生卵巢。这类性别决定好像是一种“数字化”（任一 / 或者）现象。在染色体性别建立之后，生殖腺便产生一些激素，协调身体不同部位发育出雄性或雌性表型。这种次级性别决定更接近于“类似物”，其中不同的激素水平和对激素的应答能产生不同的表型。因此，次级性别决定通常但并不总是与初级性别决定相协调。

网络话题 6.5　**脑性别与社会性别**　除了次级性别决定的物理因素，还有行为属性。脑是雄性和雌性之间存在差异的一种器官；但是它是否产生不同图式的人类行为？

科学家讲座 6.4　神经科学家 Daphna Joel 博士讨论她显示雄性和雌性的脑显著相似的研究。

6.5 果蝇中的染色体性别决定

虽然哺乳动物和果蝇都产生 XX 雌性和 XY 雄性，但它们的染色体为了达到这些最终目的所采取的方式却非常不同。在哺乳动物，Y 染色体在决定雄性性别中起关键作用。在果蝇，Y 染色体不参与性别决定。相反，在一些蝇类，Y 染色体上似乎含有一些在成体时参与精子形成的基因，而不是性别决定。

果蝇的性别主要由每个细胞中 X 染色体的数目决定。如果在二倍体细胞中只有一条 X 染色体，那么果蝇就是雄性。如果二倍体细胞中有两条 X 染色体，那么果蝇是雌性。如果一只果蝇有两条 X 染色体和三套常染色体，它就是一个**嵌合体**（**mosaic**），其中一些细胞是雄性，另一些细胞是雌性。因此，虽然 XO 哺乳动物是不育的雌性（没有 Y 染色体，因此没有 *Sry* 基因），而 XO 果蝇是不育的雄性（每套二倍体中有一条 X 染色体）。

在果蝇中，并且从总体来说在昆虫中，都可以观察到雌雄嵌合体，其中动物身体的某些区域是雄性，而其他区域是雌性（**图 6.13**）。一条 X 染色体从一个胚胎细胞的核中丢失时会产生雌雄嵌合体的果蝇。来自这个胚胎细胞的后代细胞是 XO 型（雄性），而不是 XX 型（雌性）。XO 细胞显示雄性特征，而 XX 细胞呈现雌性特征，这表明在果蝇中，每个细胞都能做出自身的性别“决定”。的确，Morgan 和 Bridges（1919）在他们关于雌雄嵌合体的经典论述中断定，“雄性和雌性的部分及其性别相关特征都是严格的自我决定，按照自身的意愿进行发育”，每一种性别的抉择都“不受周围细胞意愿的干扰，也不受制于生殖腺的作用”。虽然有一些器官并不遵循这一规则（特别是外生殖器），但这仍然是果蝇性别发育的一个很好的一般原则。

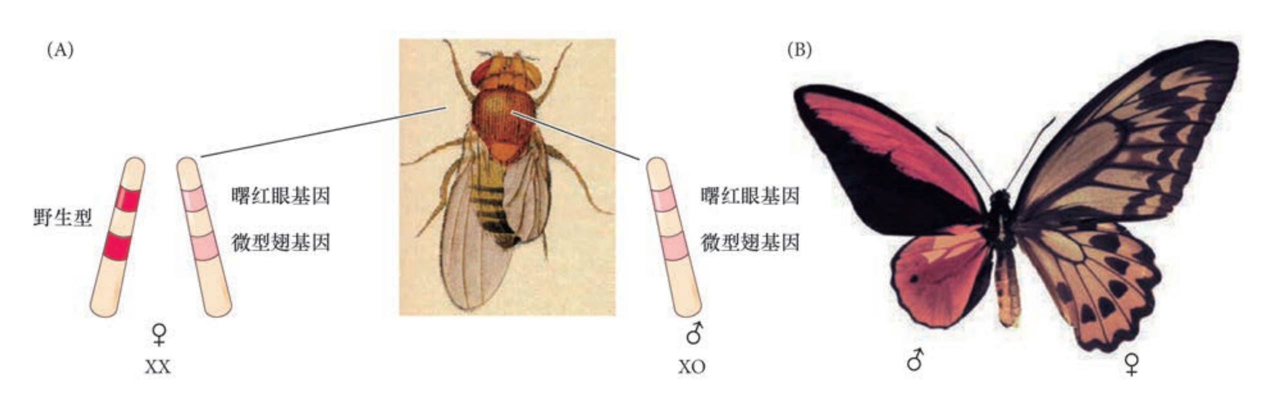


图 6.13 雌雄嵌合体昆虫。(A) 左侧是雌性（XX）、右侧是雄性（XO）的黑腹果蝇 。雄性的一侧缺失一条携带眼睛颜色和翅形状的野生型等位基因的 X 染色体，从而使另一条 X 染色体上的隐性等位基因曙红眼和微型翅表达出来。(B) 鸟翼凤蝶（*Ornithopera croesus*）。雄性一侧较小并且呈红色、黑色和黄色，而雌性一侧较大并且呈棕色（A 图由 Edith Wallace 绘制，来自 Morgan and Bridges 1919；B 图来自蒙特利尔昆虫馆，照片由作者提供）。

6.5.1 性别致死基因

尽管长期以来人们一直认为果蝇的性别受 X 染色体与常染色体（X：A）的比例所决定（Bridges 1925），但这种看法主要是基于染色体数目异常的果蝇。最近的分子分析表明，X 染色体数目本身就是正常二倍体昆虫的性别决定因素（Erickson and Quintero，2007）。X 染色体含有编码一些转录因子的基因，这些转录因子在果蝇性别决定中激活一个关键的基因，即 X 连锁的基因座**性别致死基因**（***sex-lethal*，*Sxl***）。性别致死蛋白是一个剪接因子，能起始一个级联的 RNA 加工事件，最终产生雄性和雌性特异的转录因子（**图 6.14**）。这些转录因子（双重性别蛋白）转而差异性地激活产生雄性表型（睾丸、性梳、色素沉着）或雌性表型（卵巢、卵黄蛋白、色素沉着）的基因。

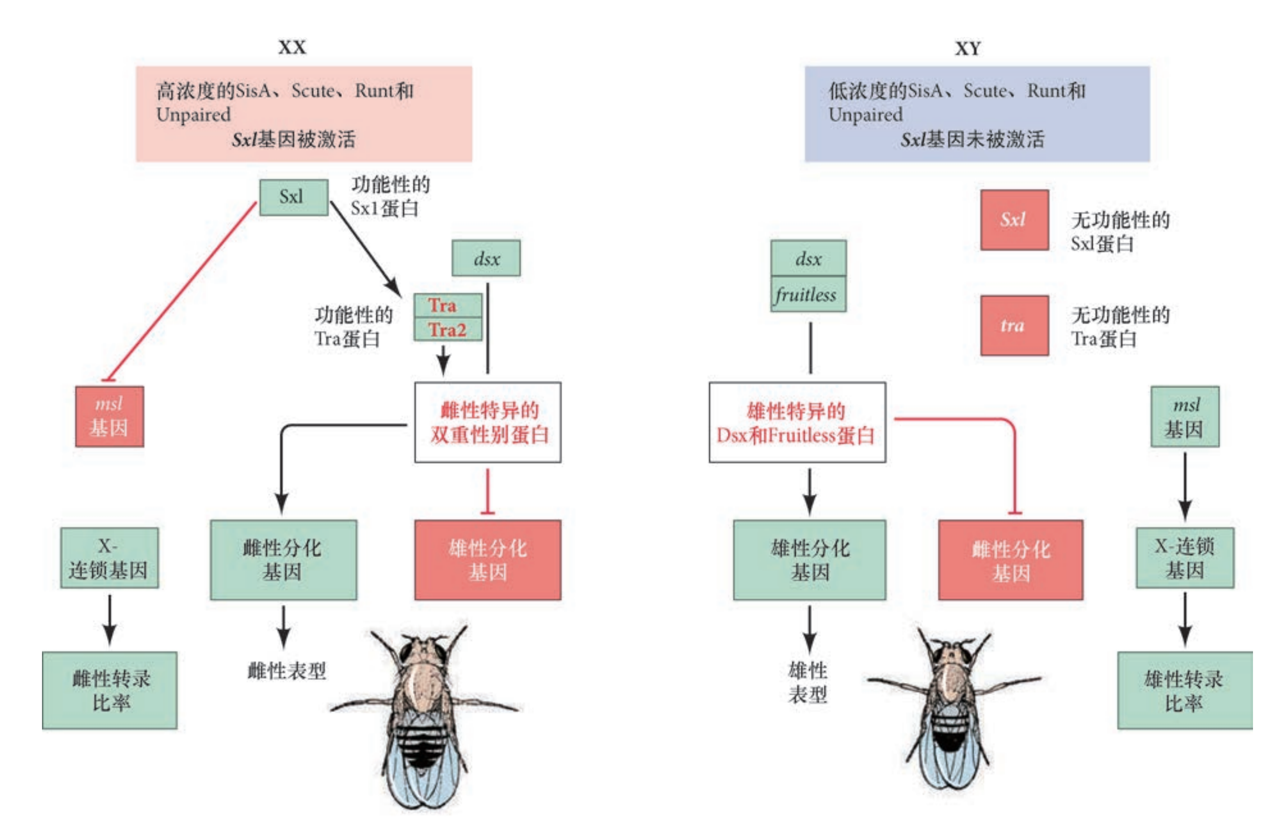


图 6.14　果蝇体细胞性别决定中的假定调节性级联。来自 X 染色体的转录因子在雌性（XX），而不是在雄性（XY）中激活性别致死基因（*Sxl*）。性别致死蛋白行使三个主要功能。首先，它激活自身的转录，保证 Sxl 蛋白的进一步产生。其次，它阻遏 *msl2* 的 mRNA 的翻译，这是在 X 染色体上促进转录的一个因子。这样就使得雌性中两条 X 染色体的转录与雄性中单条 X 染色体的转录相平衡。第三，Sxl 能使 *transformer-1*（*tra1*）前体 RNA 剪接产生功能性的蛋白质。Tra 蛋白以雌性特异的方式加工双重性别（*dsx*）前体 RNA，这为雌性的大部分躯体赋予性别命运。它还以雌性特异的方式加工 *fruitless* 前体 RNA，从而赋予果蝇的雌性特异行为。如果没有 Sxl 蛋白（因此也没有 Tra 蛋白），*dsx* 和 *fruitless* 的前体 RNA 以雄性特异的方式被加工（网络话题 6.7 中讨论了 *fruitless* 基因）（参考 Baker et al. 1987）。

激活性别致死基因　X 染色体的数目似乎只有一个单一的功能：激活（或不激活）性别致死基因[6]的早期表达。性别致死基因编码一个将会调节生殖腺发育和 X 染色体上基因表达量的 RNA 剪接因子。这个基因有两个启动子。早期启动子仅在 XX 细胞中有活性；晚期启动子在 XX 和 XY 细胞中均有活性。X 染色体似乎编码四个激活性别致死基因早期启动子的蛋白因子。其中三个是转录因子：SisA、Scute 和 Runt。它们结合早期启动子以激活转录。第四个蛋白——Unpaired，是通过 JAK-STAT 途径增强前三种蛋白质的分泌因子（Sefton et al. 2000；Avila and Erickson 2007）。如果这些因子的表达量积累到高于某个阈值时，性别致死基因就会通过早期启动子被激活（Erickson and Quintero 2007；Gonzáles et al. 2008；Mulvey et al. 2014）。其结果是性别致死基因在合胞体胚盘时期的 XX 胚胎中早期转录。

从 XX 胚胎的早期启动子转录的性别致死基因的前体 RNA 缺少含有终止密码子的第 3 外显子。因此，早期合成的性别致死蛋白来自以第 3 外显子缺失的方式被剪接的 RNA，所以早期的 XX 胚胎具有完整和功能性的性别致死蛋白（图 6.15）。在 XY 胚胎中，性别致死基因的早期启动子没有活性，因此没有功能性的性别致死蛋白。然而，在发育后期，随着细胞化的发生，晚期启动子变得活跃，性别致死基因在雄性和雌性中都被转录。在 XX 细胞中，来自早期启动子的性别致死蛋白能结合其自身的前体 RNA 并沿着"雌性"的方向将其剪接。在这种情况下，性别致死蛋白结合并阻断第 3 外显子上的剪接复合物（Johnson et

[6] 这一基因的恐怖名称来源于该基因的突变能导致 X 连锁基因的异常剂量补偿（见网络话题 6.6）。因此，X 染色体编码的那些基因的转录不充分，引起胚胎死亡。

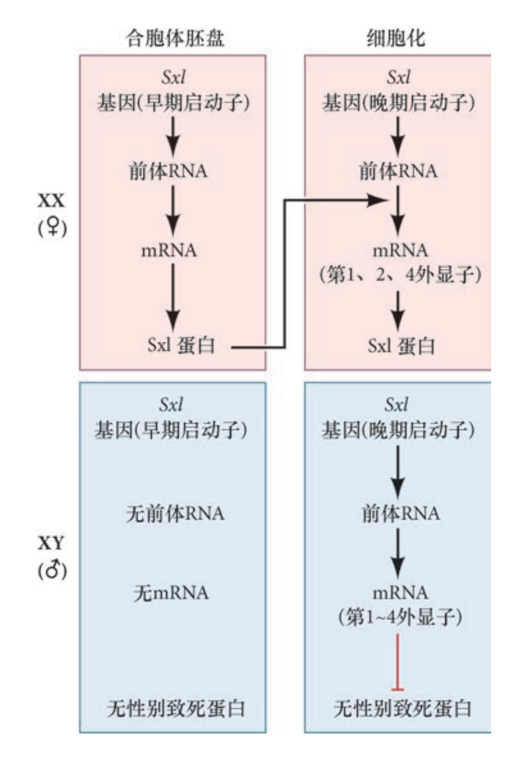


图 6.15 差异性 RNA 剪接和性别致死基因的性别特异性表达。在 XX 果蝇的合胞胚盘中，来自两条 X 染色体的转录因子足以激活性别致死基因的早期启动子。这个“早期”转录物被剪接成缺少第 3 外显子并且能够产生一个功能性的性别致死蛋白的 mRNA。XY 果蝇的早期启动子未被激活，雄性缺乏功能性的性别致死蛋白。在细胞化胚盘期，性别致死基因的晚期启动子在 XX 和 XY 果蝇中均有活性。在 XX 果蝇中，已经存在于胚胎中的性别致死蛋白阻止第 3 外显子被剪接到 mRNA，这样就产生了一个功能性的性别致死蛋白。然后性别致死结合自身的启动子以维持其活性；它也能剪接下游的前体 RNA。在 XY 胚胎中，性别致死蛋白不表达，第 3 外显子被剪接到 mRNA。由于第 3 外显子含有终止密码子，这使得雄性不能合成功能性的性别致死蛋白（参考 Salz 2011）。

al. 2010；Salz 2011）。结果是第 3 外显子被跳过，没有被包括在性别致死基因的 mRNA 中。因此，早期的剪接产物能保证在 XX 细胞中合成全长的（354 个氨基酸）功能性性别致死蛋白（Bell et al. 1991；Keyes et al. 1992）。然而，在 XY 细胞中，早期启动子没有活性（因为 X 染色体编码的转录因子尚未达到激活这个启动子的阈值），因此没有早期的性别致死蛋白。所以，XY 细胞中性别致死基因的前体 RNA 以包含第 3 外显子及其终止密码子的方式被剪接。这时，蛋白质的合成终止于第 3 外显子（第 48 个氨基酸之后），产生无功能的性别致死蛋白。

网络话题 6.6 **剂量补偿** 如果雌性果蝇、线虫和哺乳动物细胞携带的 X 染色体数目是雄性细胞的两倍，那么 X 染色体上的基因是如何被调节的？这三个类群为这个问题提供了三种不同的解决方案。

性别致死基因的靶点 雌性特异的性别致死基因的转录物所合成的蛋白质含有重要的 RNA 结合区域。雌性特异的性别致死蛋白可能结合三个主要的 RNA 靶点。其中之一是性别致死基因自身的前体 RNA。另一个靶点是调控剂量补偿的 *msl2* 基因（见下文）。的确，如果性别致死基因在具有两条 X 染色体的细胞中没有功能，那么剂量补偿系统将不起作用，结果是细胞死亡（这也是这个基因名称的由来）。第三个靶点是 *transformer*（*tra*）基因的前体 RNA，也就是这个级联中的下一个基因（图 6.16；Nagoshi et al. 1988；Bell et al. 1991）。

性别致死蛋白将 *transformer* 基因（因为缺失功能的突变将雌性转化为雄性而命名）的前体 RNA 剪接成一个功能性的 mRNA。雄性和雌性细胞都转录 *transformer* 基因的前体 RNA；然而，在有性别致死蛋白的情况下，*transformer* 转录物的可变剪接产生一个雌性特异的 mRNA，以及一个在雌性和雄性中都表达的非特异 mRNA。像雄性的性别致死 mRNA 一样，非特异的 *transformer* 的 mRNA 含有一个早期终止密码子，使得它所翻译的蛋白质没有功能（Boggs et al. 1987）。在 *transformer* 的非特异 mRNA 中，第 2 个外显子含有终止密码子，但这个密码子在雌性特异的 mRNA 中并不终止蛋白质的翻译（见图 6.14 和图 6.16）。

雌性和雄性如何产生不同的 mRNA？雌性特异的性别致死蛋白激活 3′ 剪接位点，使 *transformer* 的前体 RNA 以排出第 2 个外显子的方式进行加工。为此，性别致死蛋白通过特异性地结合与它相邻的多

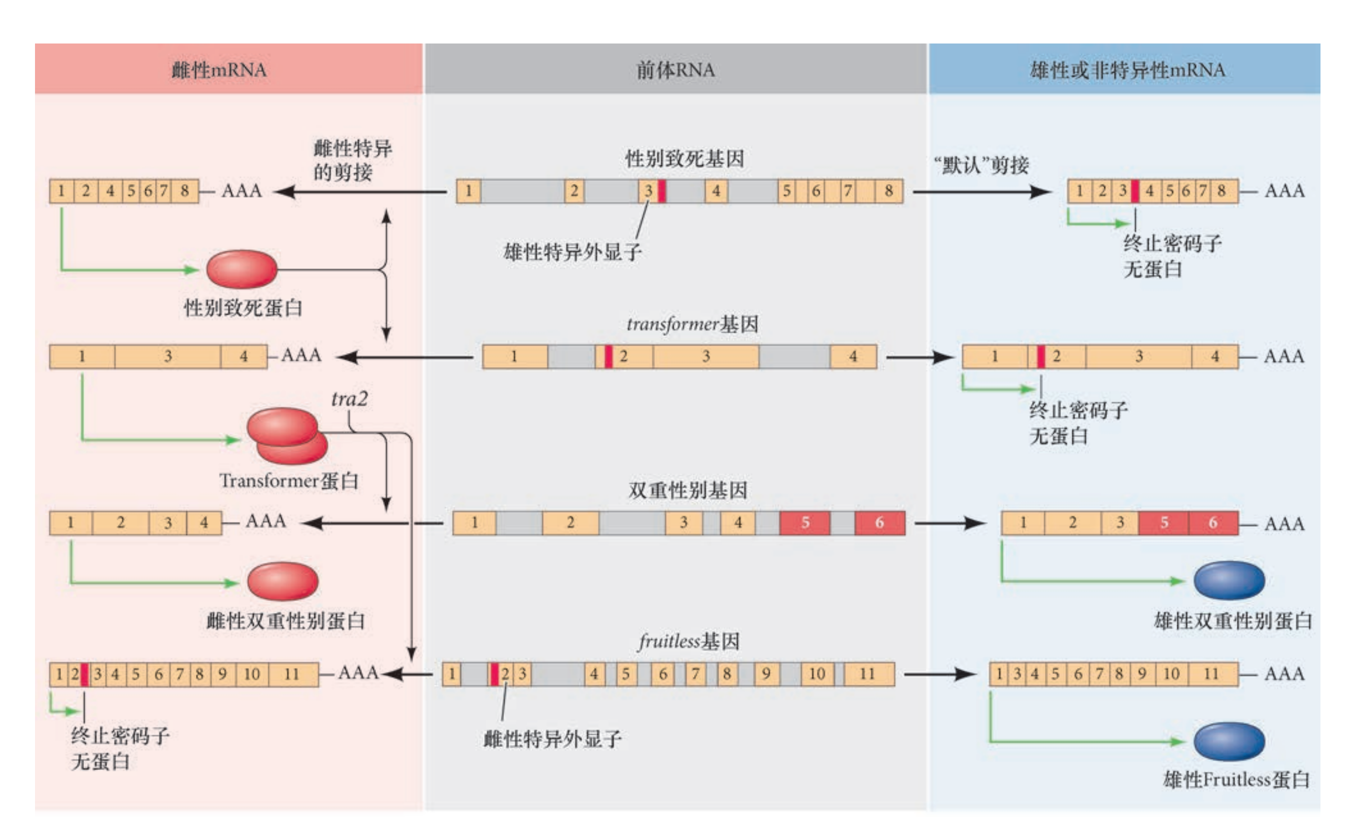


图 6.16　四个主要的果蝇性别决定基因中性别特异的 RNA 剪接。这些前体 RNA（显示在图解的中央）在雄性和雌性核中是相同的。在每种情况下，雌性特异的转录物显示在左侧，而默认的转录物（无论是雄性还是非特异性）显示在右侧。外显子被编号，终止密码子的位置被标示。性别致死基因、*transformer* 和双重性别基因都是初级性别决定遗传级联的一部分。*fruitless* 基因的转录图式决定了求偶行为的次级特征（参考 Baker 1989；Baker et al. 2001）。

嘧啶序列来阻断剪接因子 U2AF 结合 *transformer* 前体 RNA 的非特异剪接位点（Handa et al. 1999）。这使 U2AF 结合低亲和力（雌性特异）的 3′ 剪接位点以产生雌性特异的 mRNA（Valcárcel et al. 1993）。雌性特异的 Transformer（Tra）蛋白与 *transformer-2*（*tra2*）基因的产物协同作用，以雌性特异的方式剪接双重性别基因，进而产生雌性表型。

6.5.2　双重性别基因：性别决定的转换基因

果蝇的**双重性别基因**（***doublesex*，*dsx***）在雄性和雌性中均有活性，但其主要的转录物以性别特异的方式被加工（Baker et al. 1987）。这种可变的 RNA 加工是 *tra* 和 *tra2* 基因产物作用于双重性别基因的结果（见图 6.14 和图 6.16）。如果 Tra2 和雌性特异性 Tra 蛋白都表达，双重性别基因的转录物则以雌性特异的方式被加工（Ryner and Baker 1991）。雌性剪接图式产生一个雌性特异蛋白，能激活雌性特异基因（如卵黄蛋白的基因）并能抑制雄性发育。如果没有功能性的 Tra 蛋白，就会产生雄性特异的双重性别基因的转录物；这个转录物编码一个抑制雌性特征和促进雄性特征的转录因子。在胚胎的生殖腺中，双重性别蛋白调节性别二态性生殖腺细胞命运的所有已知特性。

在 XX 果蝇中，雌性双重性别蛋白（Dsx^{F}）与雌雄间性基因（*Ix*）的产物结合后形成一个转录因子复合物，促进雌性特异性状。这种"双重性别复合物"激活 *Wingless*（*Wg*）基因，其产物促进生殖盘雌性部分的生长。它也抑制参与形成雄性附属器官的成纤维细胞生长因子的基因，激活参与产生卵黄蛋白的基因，促进精子储存管的生长，并改变 *bricabrac*（*bab*）基因的表达以产生雌性特异的色素沉着图式。相反，雄性双重性别蛋白（Dsx^{M}）直接作为一个转录因子发挥功能，引导雄性特异性状的表达。它通过抑制雌性生殖盘区域而使生殖盘的雄性区域生长。它激活骨形态发生蛋白的同源物 *Decapentaplegic*（*Dpp*），并刺激成纤维细胞生长因子的基因以产生雄性生殖盘和附属结构。Dsx^{M} 还将一些外皮结构转变成抱握器，并改变

bricabrac 基因的表达以产生雄性色素沉积图式（Ahmad and Baker 2002；Christiansen et al. 2002）。

根据这个模型，图 6.14 中概括的性别决定级联的结果可以归结于双重性别转录物所产生的 mRNA 类型。如果有两条 X 染色体，激活性别致死基因早期启动子的转录因子能达到一个临界浓度，性别致死基因就能产生一个剪接因子，使 *transformer* 基因转录物以雌性特异的方式被剪接。这种雌性特异的蛋白质与 transformer-2 剪接因子相互作用，使双重性别基因的前体 RNA 以雌性特异的方式被剪接。如果双重性别基因的转录物不是以这种方式被剪接，它就会通过一个“默认”方式被加工，产生雄性特异的信使。有趣的是，果蝇的双重性别基因与脊椎动物的 *Dmrt1* 基因非常相似，并且这两种类型的性别决定可能有一些共同特性。

网络话题 6.7 **果蝇中的脑性别** 除了在果蝇中产生性别表型的“双重性别”机制之外，以 *fruitless* 基因为特征的一个独立的“脑性别”途径为个体提供一组适当的求偶和攻击行为。

6.6 环境性别决定

在许多生物体中，性别由环境因素如温度、位置和同一物种中其他成员的存在与否所决定。第 25 章将讨论环境因素对正常发育的重要性；在这里我们将讨论这些体系之一，海龟中温度依赖的性别决定。

尽管多数蛇和蜥蜴的性别在受精时受性染色体决定，但多数海龟和所有鳄鱼类的性别在受精后由胚胎的环境所决定。对于这些爬行动物，发育时期卵的温度是决定性别的关键因素，温度的轻微变化会导致性别比例的显著变化（Bull 1980；Crews 2003）。通常，在低温下孵育的卵产生一种性别，而在较高温度下孵育的卵产生另一种性别。只有一个小的温度范围能使同窝的卵孵化出雄性和雌性[7]。

图 6.17 显示陡峭温度变化在红耳龟中诱导的性别比例变化。如果一窝卵在低于 28℃的条件下孵育，所有孵化出来的龟将都是雄性。如果高于 31℃，每个卵都会产生一个雌性。在这两个温度之间，同窝的卵能产生两种性别的个体。这个规律中也存在一些差异。例如，大鳄龟（*Macroclemys*）的卵在较低（22℃或更低）或较高（28℃或更高）的温度条件下都变成雌性；在这两个极端温度之间，雄性占大多数。

研究最多的爬行动物之一是欧洲池龟（*Emys orbicularis*）。在实验室进行的一些研究中，欧洲池龟的卵被孵育在温度高于 30℃的条件下将全部产生雌性，而在温度低于 25℃的条件下孵育的同窝全部产生雄性。这里的阈值温度（性别比例均匀）是 28.5℃（Pieau et al. 1994）。在诱导雄性的温度下将卵孵育一段时间，然后在诱导雌性的温度下孵育（反之亦然），这样就可以确定发生性别决定的发育“窗口”。在欧洲池龟中，发育过程的中间 1/3 段似乎对性别决定最为关键，一般认为海龟在这段时间后不能逆转它们的性别。

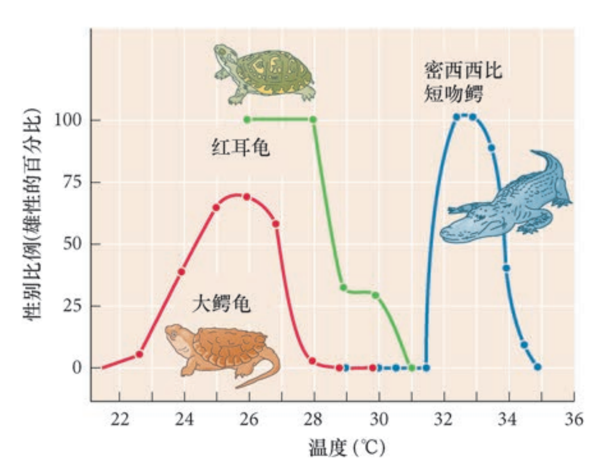


图 6.17 三种爬行动物中依赖于温度的性别决定：密西西比短吻鳄（*Alligator mississippiensis*）、红耳龟（*Trachemys scripta elegans*）和大鳄龟（*Macroclemys temminckii*）（参考 Crain and Guillette 1998）。

性别决定基因（雄性中的 *Sox9* 和 Y 染色体性别决定区；雌性中的 β- 联蛋白）的表达与产生雄性或雌性的温度相关（见 Mork and Chapel 2013；Bieser and Wibbels 2014）。然而，目前尚不清楚这些基因是否代表性别决定的温度敏感成分。最近，对于温度诱导的性别决定的敏感性的遗传研究指出，CIRBP（冷诱导

[7] 第 26 章讨论了温度依赖的性别决定在进化上的利与弊。

RNA 结合蛋白）是一个应答温度差异的介导物（Schroeder et al. 2016）。CIRBP 的基因在大鳄龟的性别决定时表达，不同等位基因产生不同的性别比例偏差。这个蛋白质可能在某些温度下抑制一些信使的剪接或翻译。另一个可能调节性别决定的温度敏感蛋白是 TRPV4，这是一个钙离子通道，其活性与激活睾丸形成基因相关（Yatsui et al. 2015）。环境诱导的性别决定的机制还有待于进一步研究。

6.7　哺乳动物的配子发生

性别决定中最重要的事件之一是对生殖细胞进行**配子发生**（**gametogenesis**）的决定，即配子（精子和卵子）的形成。就像在生殖嵴中的情况一样，哺乳动物的**原生殖细胞**（**primordial germ cell，PGC**）具有双潜能性，可以变成精子或卵子；如果它们驻留在卵巢中就会形成卵子，而如果它们驻留在睾丸中则会变成精子。所有这些决策都受发育中的生殖腺产生的一些因子所协调。

首先并且重要的是，产生精子或卵子的细胞最初并不是在生殖腺内形成；相反，它们在胚胎的后部形成后再迁移到生殖腺（Anderson et al. 2000；Molyneaux et al. 2001；Tanaka et al. 2005）。这种图式在整个动物界都很常见：生殖细胞从胚胎的其余部分被“搁置起来”，在它们从外围的一些位置迁移进入胚胎和生殖腺时，细胞的转录和翻译被关闭。仿佛生殖细胞是一个独立的实体，专为下一代而保留，而且，对基因表达的抑制使它们对发生在周围的细胞间互作不敏感（Richardson and Lehmann 2010；Tarbashevich and Raz 2010）。

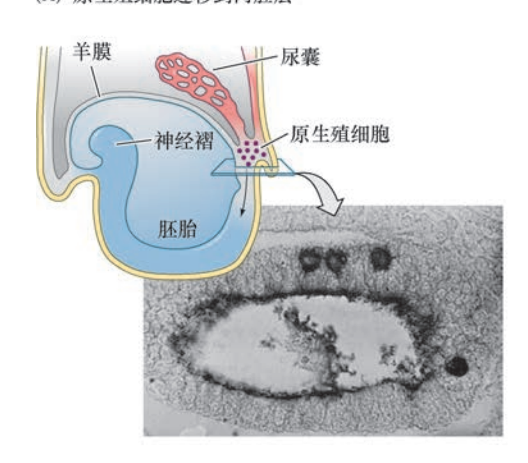
虽然用于特化生殖细胞的机制在动物界存在很大的差异，但生殖细胞表达的一些蛋白质对基因表达的抑制却非常保守。这些蛋白质包括 Vasa、Nanos、Tudor 和 Piwi 家族蛋白，在刺胞动物、果蝇和哺乳动物的生殖细胞中都表达（Ewen-Campen et al. 2010；Leclére et al. 2012）。**Vasa** 蛋白在几乎所有研究的动物中对生殖细胞都是必需的。它们参与结合 RNA，并且很可能激活生殖细胞特异的一些信使。在鸡中，通过实验诱导 Vasa 的表达能将胚胎干细胞引导向生殖细胞的命运（Lavial et al. 2009）。**Nanos** 蛋白与它们的作用蛋白 Pumilio 相结合，形成一个有效的抑制性二聚体。Nanos 蛋白阻断 RNA 翻译，而 Pumilio 结合特定 mRNA 的 3′ 非翻译区。在果蝇中，Nanos 和 Pumilio 抑制众多 mRNA 的翻译，这样，它们：①阻止细胞变成任何胚层的一部分；②阻止细胞周期的继续进行；③阻止细胞凋亡（Kobayashi et al. 1996；Asaoka-Taguchi et al. 1999；Hayashi et al. 2004）。**Tudor** 蛋白是在果蝇中发现的，携带这些基因的雌性没有生育能力[8]，也不形成极细胞（Boswell and Mahowald 1985）。Tudor 蛋白似乎能与 **Piwi** 蛋白相作用，而 Piwi 蛋白参与基因组的转录沉默，特别是活跃的转座子。

网络话题 6.8　**Theodor Boveri 与生殖细胞谱系的形成**　在 20 世纪初，Boveri 对线虫发育的研究表明，注定变成生殖细胞前体的细胞质与其他细胞的细胞质存在差异。

新形成的原生殖细胞首先进入后肠（**图 6.18A**），最终向前迁移进入双潜能的生殖腺，并在迁移过程中不断增多。从它们的特化开始直到它们进入生殖嵴，原生殖细胞被分泌干细胞因子（SCF）的细胞所包围。干细胞因子对原生殖细胞的运动性和存活是必要的。而且，一簇分泌干细胞因子的细胞似乎与原生殖细胞一起迁移，形成一个支持原生殖细胞存留、分裂和运动的“旅行巢”（Gu et al. 2009）。

迁移到生殖腺的原生殖细胞不能自行决定变成精子或卵子。这个决定由它们所驻留的生殖腺所决定；来自生殖腺的一些信号在精子发生和卵子发生之间产生显著的差异（**表 6.1**）。最根本的差异之一就是减数分裂的时间。在雌性，减数分裂在胚胎的生殖腺中起始。在雄性，减数分裂直到青春期才启动。减数分裂的“门卫”是 Stra8 转录因子，它在生殖细胞中促进一轮新的 DNA 合成和减数分裂的启动。在发育

[8] Tudor 和 Vasa 的命名都来自欧洲的皇室，这些王朝结束于没有继承人的女性君主（英国的伊丽莎白和瑞典的克里斯蒂娜）。



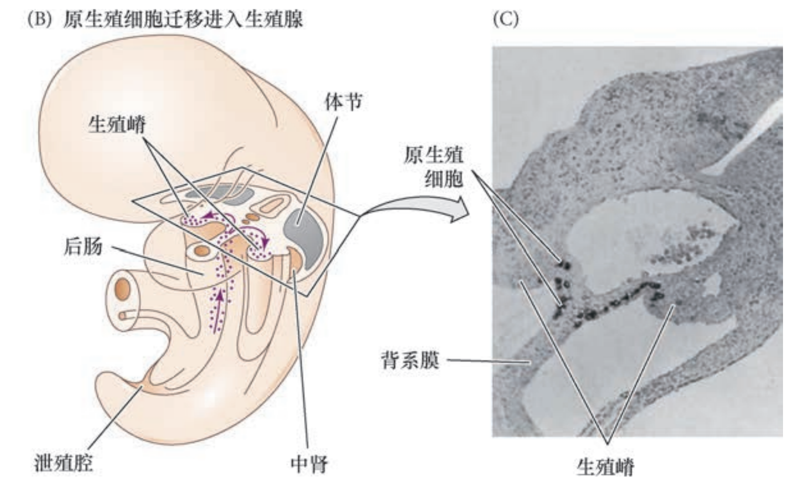


图 6.18 小鼠中原生殖细胞的迁移。(A) 在胚胎的第 8 天，位于后部上胚层的原生殖细胞迁移到胚胎的定型内胚层。照片显示小鼠胚胎后肠中的四个大的原生殖细胞（碱性磷酸酶染色）。(B) 原生殖细胞通过肠迁移，从背侧进入生殖嵴。(C) 被碱性磷酸酶染色的细胞也在胚胎的第 11 天左右进入生殖嵴（A 图来自 Heath 1978；C 图来自 Mintz 1957，由作者提供）。

表 6.1 哺乳动物减数分裂中的性别二态性

雌性卵子发生	雄性精子发生
减数分裂在有限的细胞群体中开始一次	减数分裂在一个进行有丝分裂的干细胞群体中持续启动
每减数分裂产生一个配子	每减数分裂产生四个配子
减数分裂的完成延迟数月或数年	减数分裂在几天或几周内完成
减数分裂停滞在第一次减数分裂前期，并在一个小的细胞群体中重新启始	减数分裂和分化在没有细胞周期停滞的情况下持续进行
配子的分化发生在二倍体，在第一次减数分裂前期	配子的分化发生在单倍体，在减数分裂结束后
所有染色体在减数分裂前期显现均等的转录和重组	性染色体在第一次减数分裂前期不进行重组和转录

来源：参考 Handel and Eppig 1998。

中的卵巢，Stra8 被相邻的肾产生的两个因子（Wnt4 和视黄酸）所上调（Baltus et al. 2006；Bowles et al. 2006；Naillat et al. 2010；Chassot et al. 2011）。然而，在发育中的睾丸，Stra8 被成纤维细胞生长因子 -9 所下调，并且中肾产生的视黄酸被睾丸分泌的视黄酸降解酶 Cyp26b1 所降解（图 6.19；Bowles et al.2006；Koubova et al. 2006）。但是，在雄性的青春期，视黄酸在支持细胞中合成，并在精子干细胞中诱导 Stra8。一旦 Stra8 表达，精子干细胞就被定型进行减数分裂（Anderson et al.2008；Mark et al. 2008）。因此，视黄酸合成的时间似乎控制 Stra8，而 Stra8 使生殖细胞进行减数分裂。下调 Stra8 的成纤维细胞生长因子 -9 似乎能将雄性生殖细胞维持在一个干细胞样的状态（Bowles et al. 2010）。

哺乳动物生殖腺的结构也起关键作用。支持细胞、间质细胞和生精小管的血管构成了一个干细胞微环境（Hara et al. 2014；Manku and Culty 2015）。进入发育中睾丸的原生殖细胞将被维持在一个干细胞样的状态，使它们能够进行有丝分裂以产生精子前体。然而，卵巢的卵泡细胞不能组成一个干细胞微环境。相反，每个原生殖细胞将被一些卵泡细胞包围，通常每个卵泡中只有一个卵子成熟。

6.7.1 减数分裂：生命周期的交汇

减数分裂（**meiosis**）可能是真核生物最为独创的发明，因为它是将基因从一代传递到下一代，以及将精子和卵子来源的基因重组成新的等位基因组合的机制。Van Beneden 在 1883 年所观察的生殖细胞分裂使产生的配子含有一半二倍体数目的染色体“证明了后代的染色体以相同的数目分别来自两个相结合的生殖细胞的核，因此均等地来自两个亲代”（Wilson 1924）。减数分裂是生命周期的关键起点和终点。尽管躯体衰老和死亡，但减数分裂形成的配子在亲代的死亡中存活下来，并形成了下一代。有性生殖、进

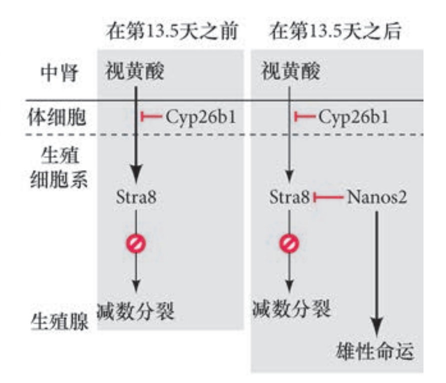






图 6.19 视黄酸（RA）决定哺乳动物生殖细胞减数分裂和有性分化的时间。(A) 在雌性小鼠胚胎中，中肾分泌的视黄酸接触生殖腺，通过诱导 Stra8 转录因子在雌性生殖细胞（米色）中启动减数分裂。然而，如果在雌性生殖细胞中激活 *Nanos2* 基因，它们便抑制 Stra8 的表达，使生殖细胞进入雄性途径（灰色）。(B) 在胚胎的睾丸中，视黄酸降解酶（Cyp26b1）阻断视黄酸信号，从而阻止雄性生殖细胞起始减数分裂，直到胚胎期的第 13.5 天（左图）。在胚胎期的第 13.5 天之后，当 Cyp26b1 表达下降时，Nanos2 开始表达，并通过阻断 Stra8 的表达来阻止减数分裂的起始。这在生殖细胞中诱导雄性类型的分化（右图）。(C，D) 在第 12 天小鼠胚胎对编码视黄酸合成酶 Aldh1a2（左侧生殖腺）和视黄酸降解酶 Cyp26b1（右侧生殖腺）的 mRNA 进行染色。视黄酸合成酶表达在雄性（C）和雌性（D）的中肾；视黄酸降解酶仅在雄性生殖腺中表达（A 图和 B 图来自 Saga 2008；C 图和 D 图参考 Bowles et al. 2006，由 P. Koopman 提供）。

化变异，以及从一代到下一代的性状传递都归结于减数分裂。所以，要了解生殖细胞所做的事情，我们必须先了解减数分裂。

减数分裂是配子将染色体数量减半的手段。在单倍体条件下，每条染色体仅有一个拷贝，而二倍体细胞中每个染色体具有两个拷贝。减数分裂与有丝分裂的不同之处在于：①减数分裂细胞经历两次细胞分裂而没有发生于其间的 DNA 复制；②同源染色体配对和重组遗传物质。

在生殖细胞的最后一次有丝分裂之后出现一个 DNA 合成期，这样，起始减数分裂的细胞就使其核中的 DNA 量增加了一倍。在这种状态下，每个染色体由两条姊妹**染色单体**（**chromatid**）组成，附着于一个共同的动粒[9]（换句话说，二倍体核中每对染色体有四个拷贝）。在第一次减数分裂（减数分裂Ⅰ），同源染色体（例如，二倍体细胞中的一对 3 号染色体）聚集在一起，然后分离到不同的细胞。因此，第一次减数分裂在两个子细胞之间平分两个同源染色体，以至于每个子细胞仅得到一对染色体的一个拷贝。但是每条染色体早已经复制（即每条染色体都有两条染色单体），所以第二次分裂（减数分裂Ⅱ）将两个姊妹染色单体彼此分离。减数分裂的最终结果是四个细胞，每个细胞获得每条染色体的单个（单倍体）拷贝。

第一次减数分裂起始于一个很长的前期，它被进一步分为四个时期（图 6.20）。在**细线期**（**leptotene**；希腊语，“细线”），染色单体的染色质伸展得非常细，因而不能识别单条染色体。然而，DNA 复制已经发生，每条染色体由两条平行的染色单体组成。在**偶线期**（**zygotene**；希腊语，“绑在一起的线”），同源染色体并排配对。这种配对，称为**联会**（**synapsis**），是减数分裂的特征；这样的配对并不发生在有丝分裂过程。虽然目前尚不清楚每条染色体识别其同源染色体的机制（见 Barzel and Kupiec 2008；Takeo et al. 2011），联会似乎需要核膜和一个称为**联会复合体**（**synaptonemal complex**）的蛋白丝带的形成。在许多物种中，核膜可能作为分裂前期染色体相结合的附着点，从而降低了寻找其他同源染色体的复杂性（Comings 1968；Scherthan 2007；Tsai and McKee 2011）。联会复合体是一种具有一个中心元件和两个侧条的梯状结构（von Wettstein 1984；Yang and Wang 2009）。同源染色体与两个侧条相联结，

[9] 着丝粒和动粒这两个术语通常可以互换使用，但事实上，动粒是组装在称为着丝粒的 DNA 序列上的复合蛋白质结构。

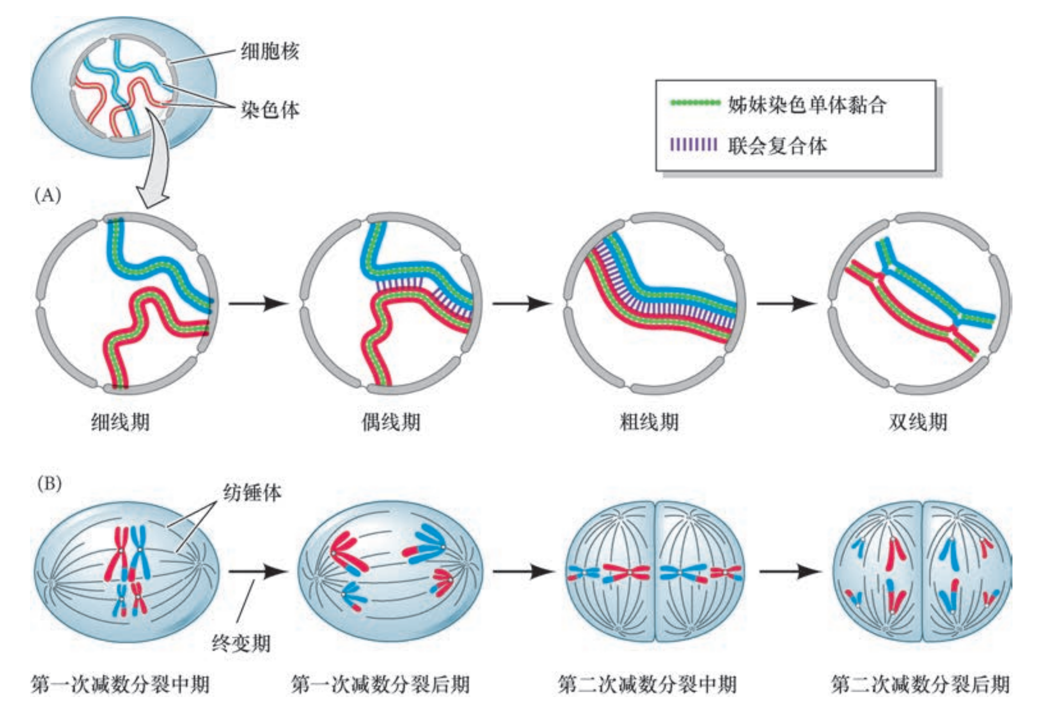


图 6.20 减数分裂，重点突出联会复合体。在减数分裂之前，没有配对的同源染色体在细胞核内随机分布。(A) 在细线期，端粒已经沿着核膜附着。染色体在“搜索”同源染色体，联会（同源染色体的联结）起始于偶线期，在这个时期可以观察到联会复合体的初始迹象。在粗线期，同源排列沿着染色体的整个长度进行，并产生二价体结构。配对的同源染色体可以在偶线期和粗线期互相重组（互换）。联会复合物在双线期消失，这时重组完成。(B) 在终变期，染色体进一步致密，然后形成赤道板。同源染色体的分离发生在第一次减数分裂后期。在第二次减数分裂时只显示了一对姊妹染色单体，这两个姊妹染色单体在第二次减数分裂中期排列整齐，然后在第二次减数分裂后期分离到相反的两极（参考 Tsai and McKee 2011）。

因此染色体被连接在一起。由四条染色单体和联会复合体形成的排列被称为**四联体**（**tetrad**）或**二价体**（**bivalent**）。

在减数分裂前期的下一个时期——**粗线期**（**pachytene**；希腊语，“粗线”），染色单体变粗并缩短。在光学显微镜下可以区分单个的染色单体，这时能发生交换。**交换**（**crossing-over**）是遗传物质的交换，来自一个染色单体的基因与来自另一个染色单体的同源基因进行交换。交换能持续到下一时期——**双线期**（**diplotene**；希腊语，“两条线”）。在双线期，联会复合物分解并且两条同源染色体开始分离。然而，它们通常仍然附着在多个连接点，这些连接点称为**交叉**（**chiasmata**），被认为是正在发生交换的区域。双线期的特征是高水平的基因转录。

减数分裂中期从染色体的**终变期**（**diakinesis**；希腊语，“分开”）开始（图 6.20B）。这时核膜破裂，染色体迁移形成赤道板。第一次减数分裂后期直到染色体沿有丝分裂纺锤体纤维正确排列后才开始。这种排列由阻止细胞周期蛋白 -B 降解的蛋白质来完成，直到所有染色体牢固绑定在微管上之后。

在第一次减数分裂后期，同源染色体以一种独立的方式彼此分开。这个过程将细胞带到第一次减数分裂末期，形成两个子细胞，每个细胞含有每对同源染色体的其中一条。经过短暂的**减数分裂间期**（**interkinesis**）之后，第二次减数分裂起始。在第二次减数分裂期间，每条染色体的动粒在后期分裂，使得每个新细胞获得两个染色单体之一，最终结果是产生了四个单倍体细胞。我们可以看到减数分裂也将染色体重新搭配成新的组合。首先，每个单倍体细胞都有一个不同的染色体组合。人类有 23 对不同的染色体，因此，一个人的基因组能形成 2^{23}（近 1000 万）个不同的单倍体细胞。此外，在第一次减数分裂中期的粗线期和双线期发生的交换进一步增加了遗传多样性，使得潜在的不同配子的数量大得难以估算。

减数分裂染色体的这种组织和运动受围绕姊妹染色单体的**黏连蛋白**（**cohesin protein**）环所编排。

黏连蛋白环抵抗纺锤体微管的拉力，从而在第一次减数分裂期间保持姊妹染色单体的附着（Haering et al. 2008；Brar et al. 2009）。黏连蛋白还招募其他一些蛋白质，促进同源染色体之间的配对，并使重组能够发生（Pelttari et al.2001；Villeneuve and Hillers 2001；Sakuno and Watanabe 2009）。在第二个减数分裂时，黏连蛋白环被切割，这样动粒就能彼此分离（Schöckel et al. 2011）。

网络话题 6.9 **减数分裂的修饰**　在许多生物体中，雌性可以不需要雄性，通过改变减数分裂而自身繁殖。它们可以产生二倍体的卵子，并通过不同于精子入卵的方式将其激活。

6.7.2　哺乳动物的配子发生：精子发生

精子发生（**spermatogenesis**），也就是生殖细胞到成熟精子的发育途径，起始于青春期，发生在支持细胞之间的隐窝处（图 6.21）。精子发生可被分为三个主要阶段（Matson et al. 2010）。

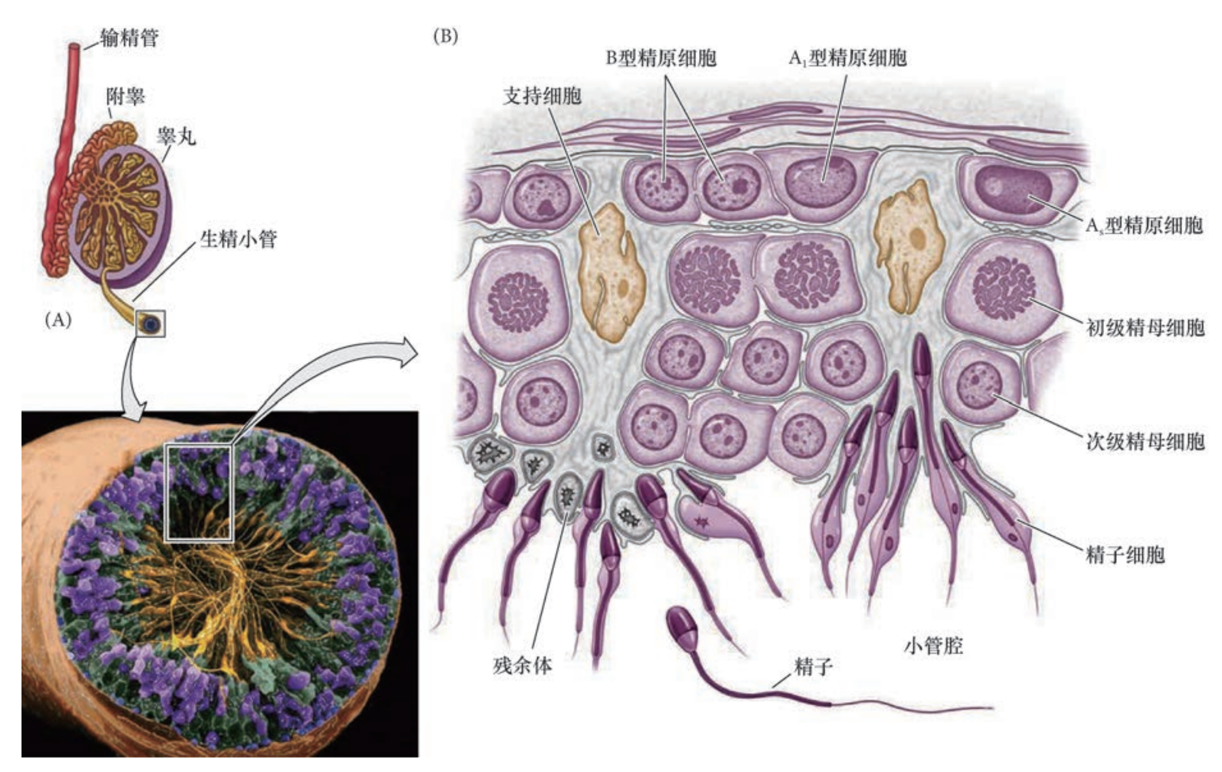


图 6.21　精子成熟。(A) 生精小管的横切面。精原细胞为蓝色、精母细胞是淡紫色、成熟的精子呈黄色。(B) 生精小管的部分简化示意图，显示精原细胞、精母细胞和精子之间的关系。随着这些生殖细胞的成熟，它们逐渐进入生精小管（也见图 7.1）(A 图照片由 R. Wagner 提供；B 图基于 Dym 1977)。

1. 增殖阶段，精原干细胞，即**精原细胞**（**spermatogonium**），通过有丝分裂增加数量。
2. 减数分期阶段，涉及产生单倍体状态的两次分裂。
3. 减数分裂后期的“塑型”阶段，称为**精子形成**（**spermiogenesis**），在此期间，圆形的细胞（精子细胞）驱出大部分细胞质，变成流线型的精子。

增殖阶段起始于哺乳动物原生殖细胞到达雄性胚胎的生殖嵴。在这里，它们被称为**生殖母细胞**（**gonocyte**），并被整合到将要变成生精小管的性索（Culty 2009）。生殖母细胞变成未分化的精原细胞，驻留在管状细胞的基部附近（Yoshida et al. 2007，2016）。这些细胞是真正的干细胞，因为将它们移植到精子产生被毒性化学物质破坏的小鼠中时可以重建精子发生。精原细胞似乎驻留在支持细胞（生精小管的上皮）、间质性（产生睾酮）的间质细胞和睾丸血管交界处的干细胞微环境。一些黏附分子将精原细胞直接连接到滋养发育中的精子的支持细胞（Newton et al. 1993；Pratt et al. 1993；Kanatsu-Shinohara et al.

2008）。这些干细胞的有丝分裂增殖将这个小群体扩增成一个分化中的精原细胞群体，也就是 **A 型精原细胞**（**type A spermatogonium**），它们在成年男性中每秒钟能产生超过 1000 个精子（Matson et al. 2010）。

随着精原细胞的分裂，它们通过细胞质桥互相连接在一起。但是这些桥的连接比较脆弱，当一个细胞与其他细胞分离时，它能再次变成一个未分化的精原细胞（Hara et al. 2014）。在青春期，精子发生的减数分裂阶段受多种因子调节。支持细胞及围绕一些小管并为这些小管提供强度和弹性的肌样细胞产生胶质细胞源性神经营养因子（GDNF，一个旁分泌因子）。GDNF 有助于精原细胞作为干细胞进行分裂（Chen et al. 2016a）。如前所述，青春期的视黄酸水平激活 Stra8 转录因子，这时骨形态发生蛋白 -8b（BMP8b）旁分泌因子的水平也达到临界浓度。BMP8b 被认为能指令精原细胞表达一些受体，使得它们能够应答一些蛋白质，如干细胞因子（SCF）。的确，缺失 BMP8b 的小鼠在青春期不能起始精子发生（Zhao et al. 1996；Carlomagno et al. 2010）。进行有丝分裂的精原细胞和起始减数分裂的精母细胞之间的转换似乎受 GDNF 和 SCF 的反向影响所介导，而 GDNF 和 SCF 都由支持细胞分泌。SCF 促进精原干细胞向精子发生的过渡，而 GDNF 促进精原干细胞分裂（Rossi and Dolci 2013）。

减数分裂阶段：单倍体精子细胞　具有高水平的 Stra8 和应答干细胞因子的精原细胞分裂变成 **B 型精原细胞**（**type B spermatogonium**）。B 型精原细胞是精母细胞的前体，是最后一种进行有丝分裂的细胞（图 6.22；de Rooij and Russell 2000；Nakagawa 2010；Griswold et al. 2012）。它们分裂一次以产生**初级精母细胞**（**primary spermatocyte**），即进入减数分裂的细胞。每个初级精母细胞进行第一次减数分裂以产生一对**次级精母细胞**（**secondary spermatocyte**），然后这些细胞完成第二次减数分裂。这样形成的单倍体细胞称为**精子细胞**（**spermatid**），它们仍然通过一些细胞质桥互相连接在一起。以这种方式连接的精子细胞具有单倍体核，但却是功能性二倍体，因为一个细胞中形成的基因产物能够很容易地扩散到邻近细胞的细胞质中（Braun et al. 1989）。

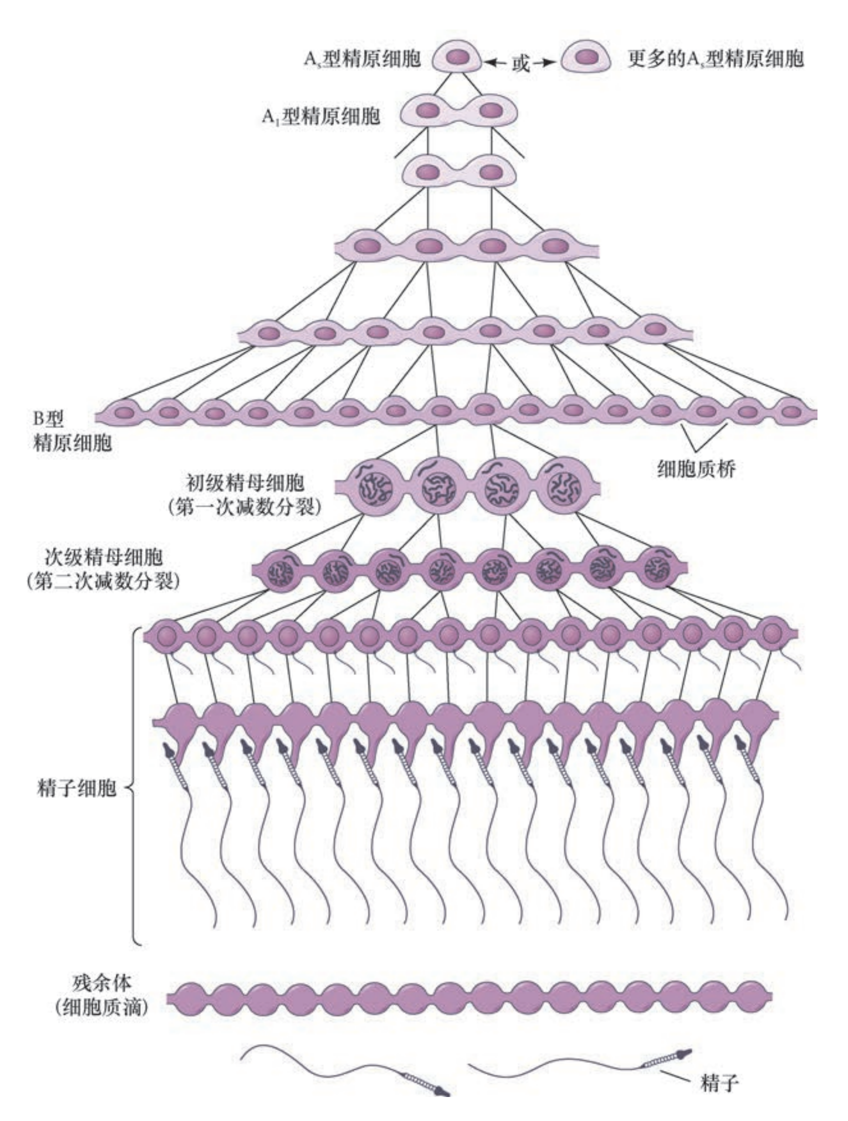


图 6.22　男性生殖细胞合胞体克隆的形成（参考 Bloom and Fawcett 1975）。

在从未分化的精原细胞到精子细胞的分裂过程中，细胞离生精小管的基底膜越来越远，但更接近生精小管腔（见图 6.21；Siu and Cheng 2004）。随着精子细胞向管腔边缘移动，它们失去细胞质连接并分化成精子。在人类，从精原干细胞到成熟精子的进程需要 65 天（Dym 1994）。

精子形成：精子的分化　哺乳动物的单倍体精子细胞是一个没有鞭毛的圆形细胞，看起来完全不像成熟的脊椎动物精子。然而，精子成熟的下一步是**精子形成**（**spermiogenesis**，或 **spermateliosis**），也就是精子细胞

的分化。为了能够进行受精，精子必须与卵子接触并结合，而精子形成为精子的这些运动和互作功能做准备。哺乳动物精子的分化过程如图 7.1 所示。第一步是从高尔基体构建顶体泡，对于这个过程我们还知之甚少（见 Berruti and Paiardi 2011）。顶体形成一个覆盖精子核的帽。在顶体帽形成后，细胞核旋转，使得顶体帽面向生精小管的基板。这种旋转是必要的，因为从核另一侧的中心粒开始形成的鞭毛将延伸到生精小管腔。在精子形成的最后阶段，细胞核变得扁平且致密，剩余的细胞质（残余体或细胞质滴；见图 6.22）被丢弃，线粒体围绕鞭毛的基部形成一个环。

在精子形成过程中，精原细胞的组蛋白通常被精子特异的组蛋白变体所取代，同时发生广泛的核小体解离。这种核小体的重塑也可能是去除原生殖细胞的甲基化图式，以及在精子 DNA 上建立雄性基因组特异的甲基化图式的开始（见 Wilkins 2005）。在精子形成结束时，单倍体核的组蛋白最终被鱼精蛋白[10]所取代。这种替代导致细胞核中的转录彻底关闭，并促进细胞核形成一个近似晶体的结构（Govin et al. 2004）。然后，这样产生的精子进入生精小管腔。

令人出乎意料的是，精子在离开睾丸后继续发育。从睾丸转运出来后，精子驻留在附睾中。在此期间，附睾细胞释放一些与精子融合的外排体。有证据显示这些外排体含有一些能激活和抑制某些基因的小非编码 RNA 及其他因子，精子能将这些因素带入卵子（Sharma et al. 2016；Chen et al. 2016）。这时的精子仍不完全成熟，即使从尿道排出后也是如此。正如我们将在第 7 章描述的那样，精子的最终分化发生在雌性的生殖道。在此，输卵管的分泌物将改变精子的细胞膜，使其能够与卵子细胞膜融合。因此，精子的完全分化发生在两种不同的生物体内。

在小鼠中，从干细胞到精子的发育需要 34.5 天：精原细胞阶段持续 8 天，减数分裂持续 13 天，精子形成需要另外的 13.5 天。人类精子的发育需要近两倍长的时间。每一天，每个男性睾丸中产生大约 1 亿个精子，每次射精释放出 2 亿个精子。未被利用的精子或者被吸收，或者从尿液中排出到体外。在他的一生中，一个男性能产生 10^{12} ～ 10^{13} 个精子（Reijo et al. 1995）。

6.7.3　哺乳动物的配子发生：卵子发生

哺乳动物卵子发生（产生卵）与精子发生有很大的差异。卵子通过一些激素、旁分泌因子和组织解剖结构的复杂协调而得以成熟。哺乳动物的卵子成熟可以被分为四个阶段。首先，有一个增殖阶段。在人类胚胎中，到达发育中的卵巢的 1000 多个原生殖细胞从妊娠的第 2 个月到第 7 个月迅速分裂（图 6.23）。它们产生大约 700 万个**卵原细胞**（**oogonium**）。虽然大多数这些卵原细胞随后不久就会死亡，但存活下来的群体在视黄酸的影响下继续发育，并启动第一次减数分裂。它们变成**初级卵母细胞**（**primary oocyte**）。第一次减数分裂很快就会停滞，使初级卵母细胞维持在第一次减数分裂的双线期（Pinkerton et al. 1961）。这种持久的双线期有时被称为**核网期**（**dictyate resting stage**）。这个时期能持续 12 ～ 40 年。随着青春期的开始，一些卵母细胞周期性地恢复减数分裂。那时，脑垂体中分泌的**促黄体素**（**luteneizing hormone，LH**）解除这种抑制，使得这些卵母细胞恢复减数分裂（Lomniczi et al. 2013）。它们完成第一次减数分裂，并进入第二次减数分裂中

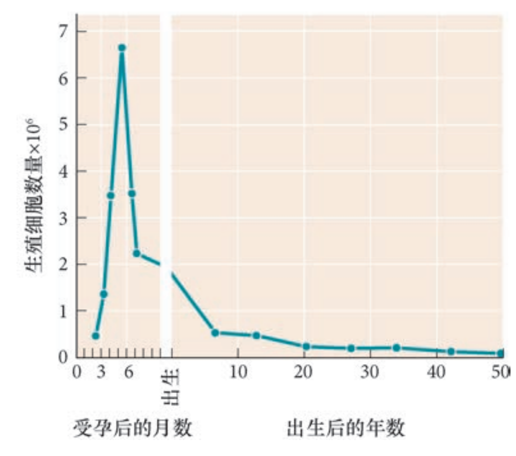


图 6.23　人类卵巢中生殖细胞数量在一生中的变化（参考 Baker 1970）。

袖珍指南

哺乳动物配子发生的部分有一些视频和照片，显示精子的流线型和卵子的显著生长，使你们更深入地了解每一时期的哺乳动物生殖腺。

[10] 鱼精蛋白是一些相对较小的蛋白质，含有超过 60% 的精氨酸。鱼精蛋白的基因转录发生在早期的单倍体精子细胞，尽管它们的翻译要延迟很多天（Peschon et al. 1987）。然而，这种替代并不完全，具有 H3K4 三甲基化的“激活性”核小体成簇地围绕在具有发育重要性的基因座周围，包括同源异形基因的启动子、某些微 RNA 和父源表达的印记基因座（Hammoud et al. 2009）。

期。促黄体素的激增使得卵母细胞成熟。卵母细胞开始合成一些蛋白质，这些蛋白质使卵母细胞具有与精子融合的能力，并能使早期胚胎发生第一次细胞分裂。这种成熟涉及卵母细胞和卵泡细胞之间一些旁分泌因子的串流，而这两种细胞都在这个阶段逐渐成熟。卵泡细胞激活一些储存的卵母细胞 mRNA，这些 mRNA 编码一些蛋白质，例如，用于受精的精子结合蛋白和调控胚胎细胞分裂的细胞周期蛋白（Chen et al. 2013；Cakmak et al. 2016）。次级卵母细胞从卵巢中释放后，只有在受精发生时才会恢复减数分裂。在受精时，钙离子在卵中释放，这些钙离子解除抑制性阻滞并使单倍体核形成。

网络话题 6.10 **卵母细胞成熟的生物化学** 卵母细胞的成熟与脑产生的多种激素密切相关。卵巢的卵泡细胞以令人着迷的方式介导这些激素的作用。

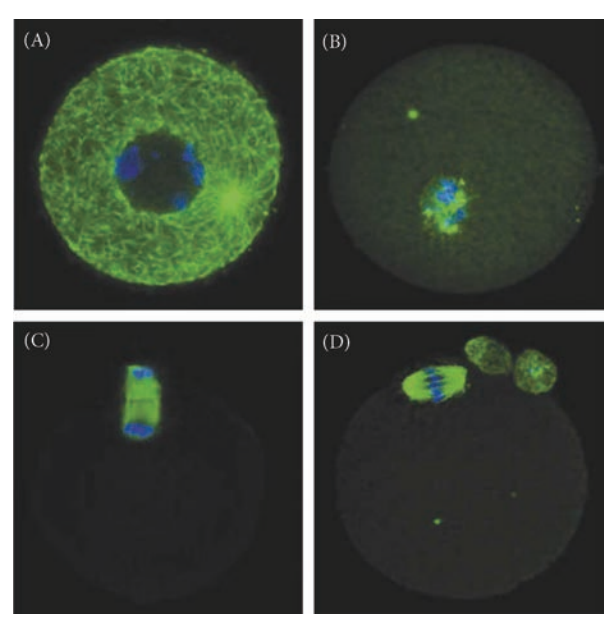


图 6.24 小鼠卵母细胞的减数分裂。微管中的微管蛋白被染成绿色；DNA 被染成蓝色。(A) 减数分裂前期的小鼠卵母细胞。大的单倍体核（生发泡）仍然保持完整。(B) 生发泡的核膜在中期开始时破裂。(C) 第一次减数分裂后期，纺锤体迁移到卵的外围并释放出一个小的极体。(D) 第二次减数分裂中期，第二极体被释放（第一极体也进行了分裂）（来自 De Vos 2002；由 L. De Vos 提供）。

卵原细胞的减数分裂 哺乳动物卵原细胞的减数分裂与精原细胞的减数分裂不仅在时间上不同，而且赤道板的位置也有差异。当初级卵母细胞分裂时，它的核膜破裂，中期纺锤体迁移到细胞的外围（见 Severson et al. 2016）。这种不对称胞质分裂主要由丝状肌动蛋白组成的细胞骨架网络所引导，这个网络支撑有丝分裂纺锤体，通过肌球蛋白介导的收缩将其带入卵母细胞的皮质（Schuh and Ellenberg 2008）。在皮质中，卵母细胞特异的一个微管蛋白介导染色体的分离，这个微管蛋白的突变引起不育（Feng et al. 2016）。在末期，其中一个子细胞几乎不含任何细胞质，而另一个子细胞几乎保留了全部体积的细胞成分（图 6.24）。小的细胞变成**第一极体**（**first polar body**），而大的细胞被称为**次级卵母细胞**（**secondary oocyte**）。

在减数分裂的第二次分裂期间也发生类似的不均等胞质分裂。大部分细胞质被成熟的卵子（卵）所保留，然后，第二极体形成但几乎仅有一个单倍体细胞核。在人类，第一极体通常不分裂。它在第一次减数分裂后大约 20 h 发生凋亡。因此，卵原细胞的减数分裂在一个细胞中保留卵母细胞的体积，而不是将其均分到四个子细胞（Longo 1997；Schmerler and Wessel 2011）。

卵母细胞与年龄 卵母细胞在卵巢中数十年的滞留具有重要的医学意义。很大比例，甚至是大多数受精的人卵中含有太多或太少将会存活下来的染色体。遗传分析显示，通常这种非**整倍性**（**aneuploidy**），也就是不正确数目的染色体，主要是由于卵母细胞减数分裂的错误（Hassold et al. 1984；Munné et al. 2007）。的确，具有非整倍性的出生婴儿的比例随着母亲年龄的增高而显著升高。在 20 多岁的妇女中，只有 2% ～ 3% 的概率出现携带额外染色体的细胞的胎儿。但在 40 多岁怀孕的妇女中，这种风险上升至 35%（图 6.25A；Hassold and Chiu 1985；Hunt and Hassold 2010）。出现这种现象的原因至少有两种。第一个原因涉及黏连蛋白的降解（Chiang et al. 2010；Lister et al. 2010；Revenkova et al. 2010）。一旦产生和组装，黏连蛋白在染色体上保留几十年，但随着细胞老化，它们便逐渐丢失（图 6.25B，C）。随着细胞的生理性老年化，这种蛋白质和功能的丢失加速。第二个原因是人类减数分裂中期所持续的时间非常长（在人类，减数分裂纺锤体的组装需要 16 h，而在小鼠中为 4 h），并且动粒和纺锤体之间的联系似乎也并不稳定（Holubcová et al. 2015）。

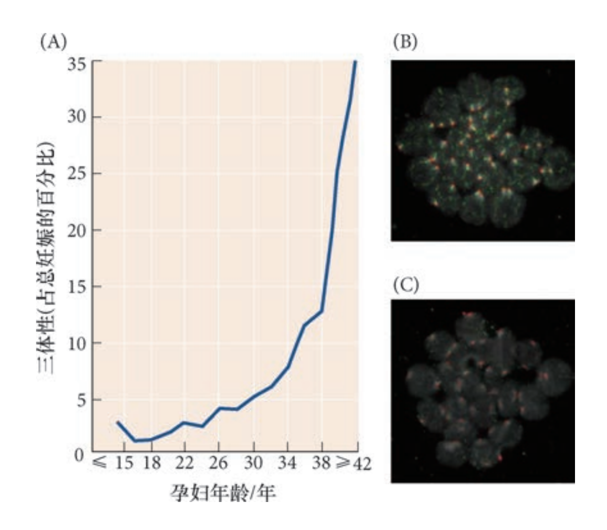


图 6.25　染色体不分离和减数分裂。(A) 孕妇年龄在人类妊娠时影响三体性的发生率。(B，C) 老龄小鼠中染色体相关的黏连蛋白的降低。在 2 个月龄（年轻）的小鼠卵母细胞核 (B) 和 14 个月龄（对于一个小鼠是老龄）的小鼠卵巢 (C) 中对 DNA（白色）和黏连蛋白（绿色）进行染色。在老龄小鼠中可以观察到黏连蛋白的显著缺失（特别是在动粒周围）(A 图参考 Hunt and Hassold 2010；B 图和 C 图参考 Lister 2010)。

结束语

因此，性别决定机制组装了卵巢或睾丸，并且生成了它们各自的配子——卵子和精子。当精子和卵子从各自的生殖腺中被释放出来时，它们就濒临死亡。然而，如果它们相遇，就能产生一个具有几十年寿命的生物体。

大自然在她的杰作中做出了许多调整。在某些物种，包括大多数哺乳动物和昆虫，性别由染色体决定；在其他物种，性别是一个环境条件的问题。然而，还有其他物种，环境和基因型性别决定都发挥作用，通常发生在不同的地域。不同的环境或遗传刺激可能通过一系列保守的途径起始性别决定。正如 Crews 和 Bull (2009) 所表述的那样：“雄性与雌性的发育决策可能并不是通过一个单一的基因，而是受一个‘议会’体系所决定，这个体系涉及具有同步输入到下游级联的多种组分的基因网络”。我们终于开始了解这个“大自然的杰作”的产生机制。

下一步的研究

我们对于性别决定和配子发生的了解还非常不完整。首先，我们对减数分裂的基本过程还缺乏了解，也就是说，同源配对如何发生和染色体在第一次减数分裂中期如何分离。这些都是遗传、发育和进化的根本进程，然而我们对此知之甚少。我们还需要更多地在细胞和组织水平上了解生殖腺的形成。我们了解很多参与这些过程的基因，但是我们对睾丸如何形成，致使生殖细胞处在这个器官的内部及卵巢在外部形成生殖细胞还了解得很少。当然，发育生物学与有性行为的关系还处于起步阶段。



开篇图的思考

这只雌雄同体的鸡被分成一半具有鸡冠、摇摆的步子和浅色雄性（公鸡），以及一半是暗色的雌性（母鸡）。一半细胞是 ZW 而另一半是 ZZ（回顾一下，鸟类具有 ZW/ZZ 染色体性别决定），这可能是由于卵在减数分裂期间没有排出一个极体，并且随后这个极体被另一个精子所受精。在鸡中，每个细胞做出自身的性别决定。在哺乳动物中，激素在产生一个一元化的表型中发挥更大的作用，所以那种男 / 女嵌合体不会出现（见 Zhao et al. 2010)（照片由 Michael Clinton 提供）。



要点总结

性别决定和配子发生

1. 在哺乳动物，初级性别决定（生殖腺性别的确定）是性染色体的一个功能。XX 个体通常是雌性，XY 个体通常是雄性。
2. 哺乳动物的 Y 染色体在雄性性别决定中起关键作用。XY 和 XX 哺乳动物都具有一个双潜能的生殖腺。在 XY 动物中，支持细胞分化并包围睾丸索中的生殖细胞。间质性的间充质细胞产生其他睾丸细胞类型，包括分泌睾酮的间质细胞。
3. 在 XX 哺乳动物，生殖细胞被生殖腺原基皮质的卵泡细胞所包围。卵泡上皮细胞变成颗粒细胞（卵泡细胞），间充质形成卵泡膜细胞。
4. 在人类，Y 染色体性别决定区基因（*SRY*）在 Y 染色体上编码睾丸决定因子。*SRY* 基因合成一个核酸结合蛋白，作为一个转录因子激活进化上保守的 *SOX9* 基因。
5. *SOX9* 基因的产物也能起始睾丸形成。作为一个转录因子，它结合编码抗苗勒氏管激素的基因及其他基因。成纤维细胞生长因子 -9 和 Sox9 蛋白具有激活睾丸发育并抑制卵巢发育的一个正反馈回路。
6. Wnt4 和 Rspo1 参与哺乳动物卵巢的形成。这些蛋白上调 β- 联蛋白的产生；β- 联蛋白的功能包括促进卵巢发育途径，同时阻遏睾丸发育途径。Foxl2 转录因子也是必需的，并且可能平行于 Wnt4/Rspo1 途径发挥作用。
7. 哺乳动物的次级性别决定涉及发育中的生殖腺所产生的一些因子。在雄性哺乳动物，苗勒氏管被支持细胞产生的抗苗勒氏管激素破坏，而间质细胞产生的睾酮使得沃尔夫管分化成输精管和精囊。在雌性哺乳动物，沃尔夫管由于缺少睾酮而退化，而苗勒氏管维持下来，并被雌激素诱导分化成输卵管、子宫、子宫颈和阴道上部。在这些激素或其受体发生突变的个体中，第一和第二性征之间可能出现不一致性。
8. 在生殖腺原基和前列腺前体中睾酮向双氢睾酮的转变能使阴茎、阴囊和前列腺分化。
9. 在果蝇中，性别由细胞中 X 染色体的数目决定；Y 染色体在性别决定中不起作用。因为没有性激素，所以每个细胞都做出一个性别决定的“决策”。然而，一些旁分泌因子在生殖腺结构形成中起重要作用。
10. 果蝇中的性别致死基因在雌性中被激活（通过 X 染色体上编码的蛋白质的积累），但由于翻译的终止，这个蛋白质不会在雄性中产生。性别致死蛋白作为一个 RNA 剪接因子从 *transformer*（*tra*）转录物上剪接一个抑制性外显子。因此，雌性果蝇表达具有活性的 Tra 蛋白，但雄性却没有。
11. Tra 蛋白也能作为一个 RNA 剪接因子，从双重性别基因（*dsx*）转录物剪接一些外显子。*dsx* 基因在 XX 和 XY 细胞中都转录，但其前体 RNA 被加工形成不同的 mRNA，取决于 Tra 蛋白是否表达。从两种双重性别信使翻译的蛋白质都具有活性，它们激活或抑制一组参与产生果蝇性别二态性状的基因的转录。
12. 脑的性别决定可能与身体其他区域有不同的下游因素。果蝇的 Tra 蛋白也在雄性中激活 *fruitless* 基因（但不在雌性）；在哺乳动物，*Sry* 基因可以独立于激素途径激活脑的有性分化。
13. 在海龟和鳄鱼中，性别通常受胚胎在生殖腺决定过程中经历的温度所决定。因为雌激素对于这些物种的卵巢发育是必要的，所以芳香酶（将睾酮转化成雌激素的一种酶）的不同水平可能将雄性与雌性生殖腺的分化图式区分开来。
14. 配子的前体是原生殖细胞（PGC）。在大多数物种（秀丽隐杆线虫是一个例外），原生殖细胞在生殖腺之外形成，并在发育过程中迁移到生殖腺。

15. 许多物种的原生殖细胞的细胞质含有转录和翻译的抑制物，使得它们的翻译和转录均处在沉默状态。

16. 在大多数已研究的生物体中，生殖细胞系性别（精子 / 卵子）的协调通过来自生殖腺（睾丸 / 卵巢）的一些信号与体细胞性别（雄性 / 雌性）相配合。

17. 在人类和小鼠，进入卵巢的生殖细胞在胚胎中起始减数分裂；进入睾丸的生殖细胞直到青春期才启动减数分裂。

18. 第一次减数分裂使同源染色体分离。第二次减数分裂将动粒分开并使染色单体分离。

19. 哺乳动物中精子生成的减数分裂以每减数分裂产生四个配子，并且没有减数分裂停滞为特征。卵子生成的减数分裂以每减数分裂产生一个配子，以及具有一个使卵子生长的持久性第一次减数分裂前期为特征。

20. 在雄性哺乳动物，原生殖细胞产生一些维持在生物体整个生命中的干细胞。原生殖细胞在雌性哺乳动物不变成干细胞（尽管在许多其他动物类群中，原生殖细胞的确在卵巢中变成干细胞）。

21. 在雌性哺乳动物，生殖细胞起始减数分裂，并且在排卵前一直停滞在第一次减数分裂前期（核网期）。在这个时期，它们合成一些参与配子识别和受精卵早期发育的 mRNA 和蛋白质。

22. 在某些物种，减数分裂被调整以形成二倍体的卵子。这类物种可以在没有受精的情况下单性（孤雌）生殖地产生下一代。

拓展阅读

Bell, L. R., J. I. Horabin, P. Schedl and T. W. Cline. 1991. Positive autoregulation of *Sex-lethal* by alternative splicing maintains the female determined state in *Drosophila. Cell* 65: 229–239.

Cunha G. R. and 17 others. 2014. Development of the external genitalia: Perspectives from the spotted hyena (*Crocuta crocuta*). *Differentiation* 87: 4–22.

Erickson, J. W. and J. J. Quintero. 2007. Indirect effects of ploidy suggest X chromosome dose, not the X:A ratio, signals sex in *Drosophila. PLoS Biol.* Dec. 5(12):e332.

Hiramatsu, R. and 9 others. 2009. A critical time window of *Sry* action in gonadal sex determination in mice. *Development* 136: 129–138.

Imperato-McGinley, J., L. Guerrero, T. Gautier and R. E. Peterson. 1974. Steroid 5α-reductase deficiency in man: An inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 186: 1213–1215.

Jordan-Young, R. M. 2010. *Brainstorm: The Flaws in the Science of Sex Differences*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Ikami, K., M. Tokue, R. Sugimoto, C. Noda, S. Kobayashi, K. Hara and S. Yoshida. 2015. Hierarchical differentiation competence in response to retinoic acid ensures stem cell maintenance during mouse spermatogenesis. *Development* 142: 1582–1592.

Joel, D. and 13 others. 2015. Sex beyond the genitalia: The human brain mosaic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 15468–15473.

Koopman, P., J. Gubbay, N. Vivian, P. Goodfellow and R. Lovell-Badge. 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry. Nature* 351: 117–121.

Maatouk, D. M., L. DiNapoli, A. Alvers, K. L. Parker, M. M. Taketo and B. Capel. 2008. Stabilization of β-catenin in XY gonads causes male-to-female sex-reversal. *Hum. Mol. Genet.* 17: 2949–2955.

Miyamoto, Y., H. Taniguchi, F. Hamel, D. W. Silversides and R. S. Viger. 2008. GATA4/WT1 cooperation regulates transcription of genes required for mammalian sex determination and differentiation. *BMC Mol. Biol.* 29: 9–44.

Sekido, R. and R. Lovell-Badge. 2008. Sex determination involves synergistic action of Sry and Sf1 on a specific *Sox9* enhancer. *Nature* 453: 930–934.

Sekido, R. and R. Lovell-Badge. 2009. Sex determination and *SRY*: Down to a wink and a nudge? *Trends Genet.* 25: 19–29.

Severson, A. F., G. von Dassow and B. Bowerman. 2016. Oocyte meiotic spindle assembly and function. *Curr. Top. Dev. Biol.* 116: 65–98.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 7 章

受精

一个新生物体的开始

精子和卵子如何找到对方？

受精是由配子，即精子和卵子，融合在一起以开始构建一个新生物体的过程。受精实现两个独立的目标：两性结合（来自双亲的基因联合）和生殖（新个体的诞生）。因此，受精的第一个功能是将基因从亲代传递给子代，其次是在卵细胞质中启动一些使发育继续进行的反应。受精的细节因物种而异，通常包括四个主要事件：

1. 精子和卵子之间的接触及识别，在很多情况下，这确保精子和卵子属于同一物种。

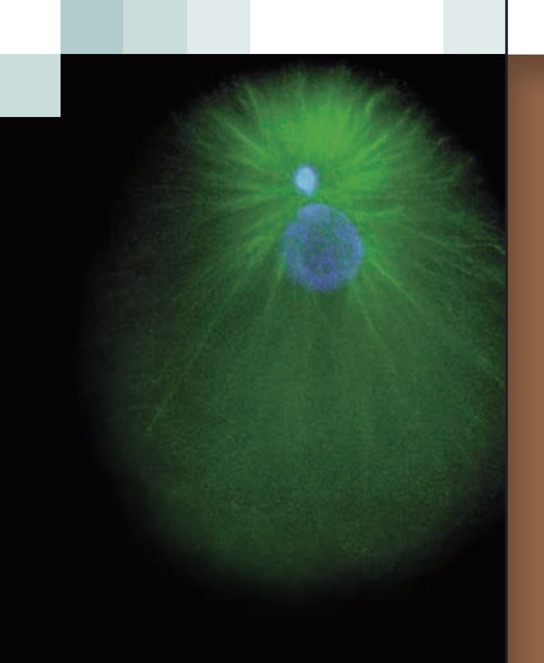
2. 精子入卵的调节。只有一个精核最终能够与卵核结合。卵子通常只允许一个精子入卵并活跃抑制其他精子入卵。

3. 精子和卵子遗传物质的融合。

4. 激活卵子代谢以开始发育。

本章将描述这些事件是如何在海胆（我们对其受精环节最为了解）和哺乳动物中完成的。





要点

在受精过程中，卵子和精子必须接触、精子的遗传物质必须进入卵子、受精卵必须启动细胞分裂和其他发育过程。精子和卵子必须朝向对方移动，并且卵子的化学物质能吸引精子。精子细胞膜上的蛋白质接触卵细胞外被上的蛋白质时发生配子识别。为了对该接触做准备，精子细胞膜被胞吐事件显著改变。精子通过释放卵内部的钙离子 (Ca^{2+}) 来启动发育。这些钙离子激活 DNA 合成、RNA 合成、蛋白质合成和细胞分裂所需的各种酶。精原核和卵原核朝向彼此移动，配子的遗传物质结合后所形成的二倍体染色体携带一个新生物体发育所需的遗传信息。

7.1 配子的结构

卵子和精子之间存在复杂的对话。卵子激活精子代谢对受精而言至关重要，作为回报，精子激活起始发育所需的卵子代谢。在研究受精过程之前，我们有必要先了解精子和卵子（两种专门用于受精的细胞类型）的结构。

7.1.1 精子

精子发现于 17 世纪 70 年代，但直到 19 世纪中期才发现它们在受精中起作用。实际上，Albert von Kölliker 在 1840 年描述了成体睾丸中的细胞如何形成精子之后，受精研究才得以真正开始。尽管如此，Albert von Kölliker 却否认精子和卵子之间有任何物理接触。他认为精子激发卵子发育的方式与磁体作用于铁的方式非常相似。冯 • 贝尔在 1847 年首次发表了对受精的描述，显示海胆和海鞘中精子与卵子的结合（Raineri and Tammiksaar 2013）。他描述了受精膜、精核向卵中心的迁移，随后发育的早期细胞分裂。在 19 世纪 70 年代，Oscar Hertwi 和 Herman Fol 重复了这项工作，并详述了两个细胞核的融合。

网络话题 7.1 **受精研究的起源** 我们对受精的认知还相对较新。虽然在 17 世纪 70 年代就发现了精子，但直到 200 年后才知道它做什么工作。

精子的解剖结构 每个精子细胞都有一个单倍体细胞核、一个移动细胞核的推进系统和一个能使细胞核入卵的酶囊。在大多数物种，精子在成熟时，其细胞质几乎全部丢失，只保留了精子行使功能所需的一些细胞器（图 7.1A，B）。在成熟过程中，精子的单倍体细胞核变成极其显著的流线型，它的 DNA 也紧密压缩。在单倍体精核的前端或侧部有**顶体泡**（**acrosomal vesicle**）或**顶体**（**acrosome**）（图 7.1C）。顶体来源于细胞的高尔基体，含有分解蛋白质和复糖的酶。储存在顶体中的酶可以分解出一条穿过卵子外部覆盖物的通路。在很多物种，精核和顶体泡之间有一个球状肌动蛋白区域。这些蛋白质在受精早期从精子表面延伸出指状的**顶体突起**（**acrosomal process**）。在海胆和很多其他物种中，精子和卵子之间的识别涉及顶体突起上的一些分子。顶体和细胞核共同构成**精子头部**（**sperm head**）。

推动精子运动的方式因不同物种适应各自的环境条件而呈现差异。在大多数物种，一个精子能够通过摆动它的**鞭毛**（**flagellum**）而运动。鞭毛的主要驱动部分是精核基部的中心粒发出的微管所形成的**轴丝**（**axoneme**）。轴丝的核心由两个中央微管及周围的一排九组二联体微管所组成。这些微管全部由二聚体的**微管蛋白**（**tubulin**）组成。

虽然微管蛋白是鞭毛结构的基础，其他一些蛋白质对鞭毛的功能也至关重要。精子的推进力由附着在微管上的**动力蛋白**（**dynein**）提供。动力蛋白是一种 ATP 水解酶，可将化学能转化为推动精子的机械能[1]。这种能量可以使外侧二联体微管活跃滑动，引起鞭毛弯曲（Ogawa et al.1977；Shinyoji et al.1998）。使鞭毛运动和驱动精子所需的 ATP 来自位于精子中段的线粒体（见图 7.1B）。在许多物种（特别是哺乳动物），有一层密集的纤维介于线粒体鞘和细胞膜之间，这会使精子尾部具有一定的硬度。因为纤维层的厚度向精子尾部逐渐变薄，这种纤维可能防止精子头部突然的摆动。因此，精子细胞经历很多复杂的变化以便将其细胞核运送到卵。

在哺乳动物，精子的分化在睾丸中并没有完成。虽然射精释放的精子能够运动，但还没有结合卵子

[1] 动力蛋白的重要性可以在患有卡塔格纳三联征（一种遗传综合征）的个体中体现出来。患者所有的纤毛和鞭毛细胞因为缺乏功能性动力蛋白而静止不动（Afzelius 1976）。因此，卡塔格纳三联征的男性不育（精子不活动）。男女患者都易患支气管感染（呼吸纤毛不活动），在 50% 的患者中，心脏位于身体的右侧（这是一种内脏反位的状态，由于胚胎中央的纤毛不活动所致）。

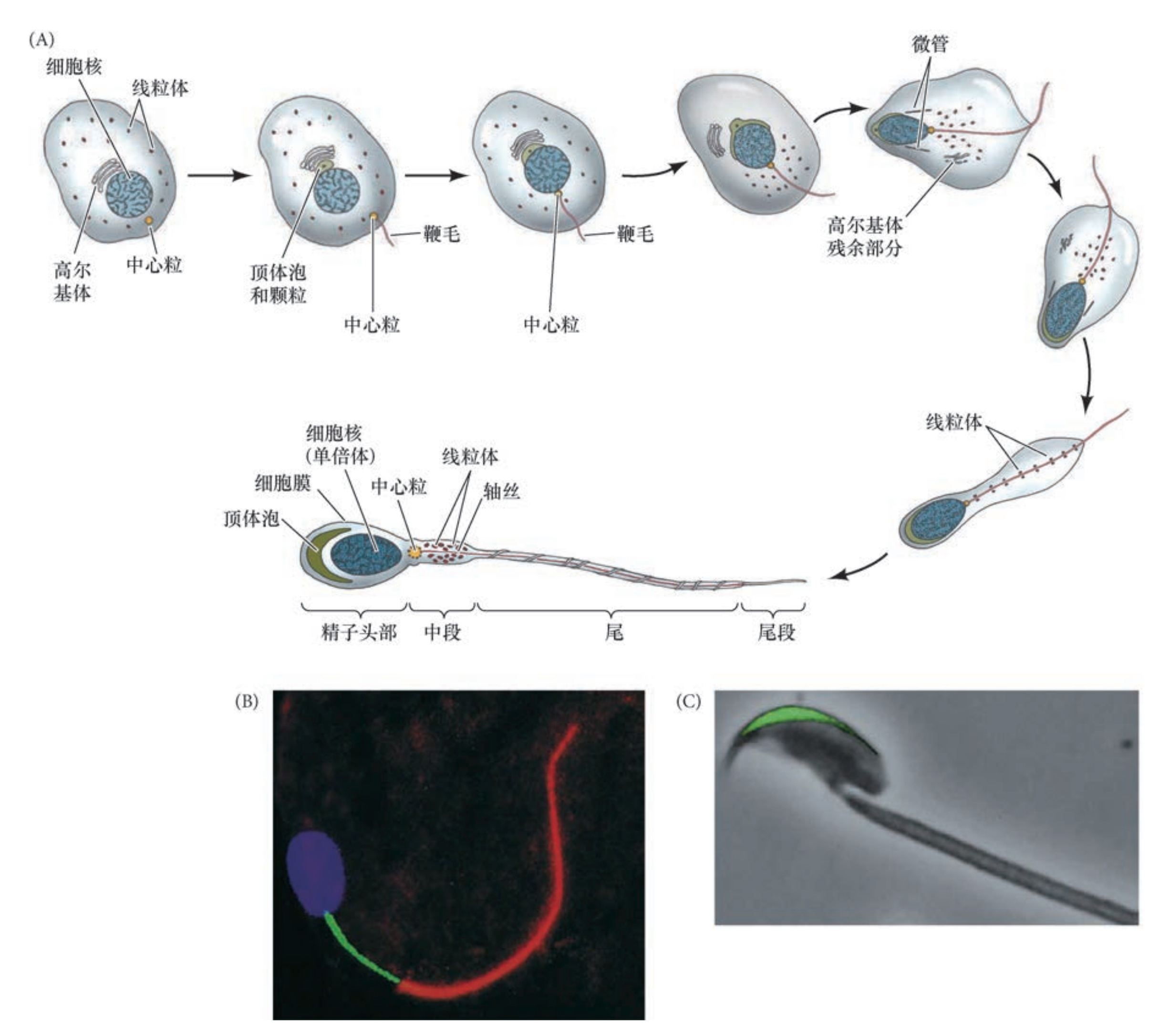


图 7.1 哺乳动物生殖细胞演变形成精子。(A) 中心粒在精子的后端产生一个长的鞭毛。高尔基体在精子的前端形成顶体泡。线粒体聚集在单倍体核基部附近的鞭毛周围，并且融合形成精子的中段（“颈”）。剩余的细胞质被丢弃，细胞核致密。相对于其他阶段，成熟精子的体积变大。(B) 成熟的公牛精子。DNA 被染成蓝色，线粒体被染成绿色，鞭毛的微管蛋白被染成红色。(C) 通过前顶体蛋白与绿色荧光蛋白 (GFP) 融合将这个小鼠精子的顶体泡染成绿色 (A 图参考自 Clermont and Leblond 1955；B 图来自 Sutovsky et al. 1996，由 G. Schatten 提供；C 图由 K.-S. Kim 和 G. L. Gerton 提供）。

并使其受精的能力。**精子获能** (**capacitation**) 是精子成熟的最后阶段，在哺乳动物中只发生在精子进入雌性生殖道内的一段时间之后。

7.1.2 卵子

细胞质和细胞核 起始生长和发育所需的所有物质都必须储存于卵或**卵细胞** (**ovum**)[2]。虽然精子在成熟时失去大部分细胞质，但发育中的卵，在它被受精的减数分裂期之前称为**卵母细胞** (**oocyte**)，不仅保留了自身已有的物质，而且持续积累。形成卵母细胞的减数分裂保留了细胞质而不是将其分出一半。同时，卵母细胞合成或者吸收一些蛋白质如卵黄，为发育中的胚胎提供营养储备。鸟卵是巨

---

[2] 双面煎蛋：这里用来描述雌性配子的术语可能会令人迷惑。通常，一个卵或卵细胞，是一个能结合精子且能被受精的雌性配子。一个卵母细胞是一个处在发育过程中的卵，还不能结合精子或被受精 (Wessel 2009)。术语中的问题是因为不同物种的卵处在不同的减数分裂时期（见图 7.3）。例如，人的卵在结合精子时处在第二次减数分裂中期，而海胆的卵在结合精子时已经完成了所有的减数分裂。卵的内含物在物种之间也有很大差异。

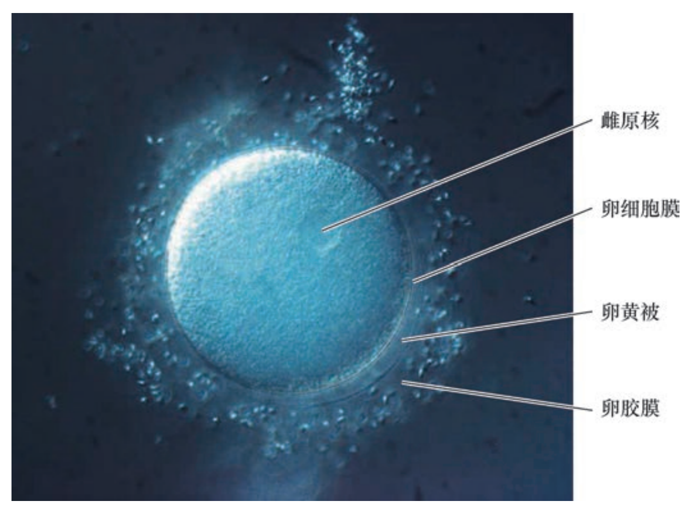


图 7.2 海胆卵受精时的结构。精子可见于卵胶膜并附着在卵黄被上。雌原核在卵细胞质内明显可见（照片来自 Kristina Yu，为 Exploratorium www.exploratorium.edu 版权所有）。

大的单细胞，因为卵黄的积累而使体积增大（见图 12.2）。即使是卵黄相对稀少的卵也比精子大。海胆卵的体积大约为 200 pL ($2×10^{-4}$ mm^3)，是海胆精子体积的 10 000 倍以上（图 7.2）。所以，即使精子和卵子具有相等的单倍体核组分，卵子在成熟期间却积聚了一个非凡的细胞质库。这个细胞质宝藏包含以下几种物质。

- **营养性蛋白质**。早期胚胎细胞必须有能量和氨基酸供应。在很多物种，这些营养物质由积累在卵中的卵黄蛋白提供。卵黄蛋白在其他器官（如肝、脂肪体）中合成并通过母体血液运送至卵母细胞。
- **核糖体和 tRNA**。早期胚胎必须合成许多自身的结构蛋白和酶，并且在一些物种中，受精后不久就会出现蛋白质合成的高峰。蛋白质合成由卵中的核糖体和 tRNA 完成。发育中的卵具有合成核糖体的特殊机制；某些两栖类动物的卵母细胞在减数分裂前期产生多达 10^{12} 个核糖体。
- **信使 RNA**。卵母细胞不仅积累蛋白质，还积累一些编码发育早期所需蛋白质的 mRNA。据估计，海胆卵含有数千种不同类型的 mRNA，直到受精后才被激活。
- **形态发生因子**。卵中含有引导细胞分化为特定细胞类型的分子。这些分子包括转录因子和旁分泌因子。在许多物种，这些分子定位在卵的不同区域，在卵裂过程中被分配到不同的细胞。
- **保护性化合物**。胚胎不能主动逃离捕食者或转移到一个安全的环境，它必须具备应对各种威胁的能力。许多卵含有紫外线过滤器和 DNA 修复酶，保护它们免受阳光照射；一些卵含有不合捕食者口味的分子。鸟卵的卵黄中含有保护胚胎不受微生物侵袭的抗体。

在卵细胞质的巨大体积内有一个大的细胞核（见图 7.2）。在少数物种（如海胆），这个**雌原核**（**female pronucleus**）在受精时已经是单倍体。在其他物种（包括许多蠕虫和大多数哺乳动物），卵核仍然是二倍体，精子在卵的减数分裂完成之前入卵（图 7.3）。在这些物种中，卵子减数分裂的最后时期发生在精子的核物质，即**雄原核**（**male pronucleus**）已经进入卵细胞质之后。

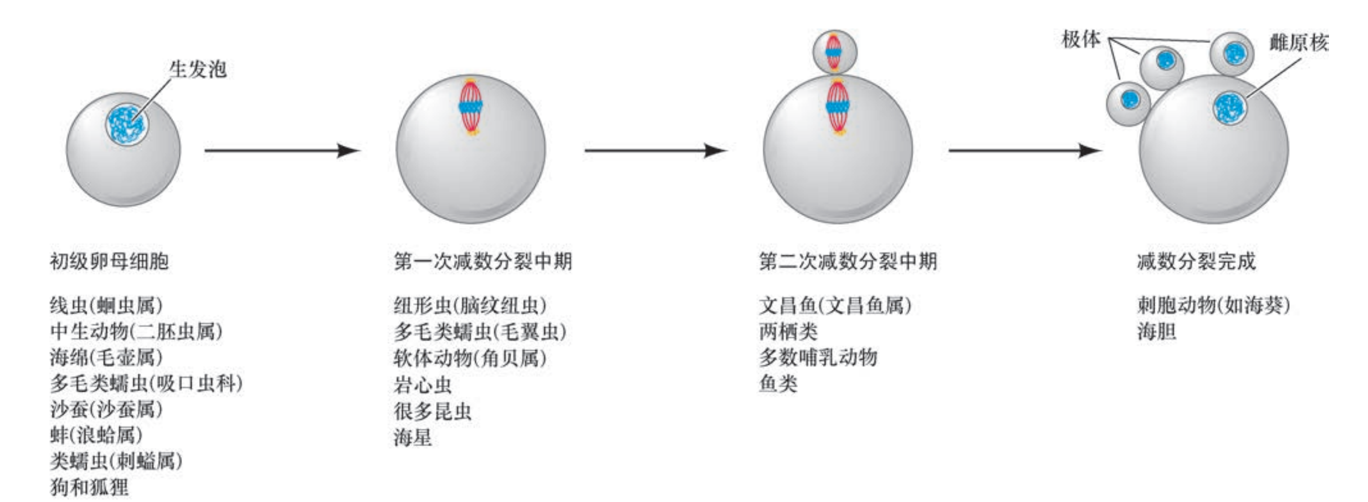


图 7.3 不同动物中精子进入时卵成熟的时期。在大多数物种，精子入卵发生在卵核完成减数分裂之前。生发泡是给予初级卵母细胞的大二倍体核的名称。极体是由减数分裂产生的无功能细胞。

网络话题 7.2　**卵和它的环境**　大多数卵是在野外，而不是在实验室受精。除了卵的发育过程之外，卵中还有一些因素可以帮助发育中的胚胎应对环境压力。

细胞膜和细胞外被　包围卵细胞质的膜在受精过程中调节特定离子的流动，并且能够与精子细胞膜融合。卵细胞膜的外部是细胞外基质，它在卵周围形成一个纤维层，通常参与精子与卵子的识别（Wasserman and Litscher 2016）。在无脊椎动物中，这种结构通常称为**卵黄被**（**vitelline envelope**；图 7.4A）。卵黄被含有多种不同的糖蛋白，并且被细胞膜延伸上的糖蛋白，以及使卵黄被黏附在细胞膜上的蛋白质"柱"所补充（Mozingo and Chandler 1991）。卵黄被对于精子的物种特异性结合是必不可少的。许多类型的卵在卵黄被外部还有一层**卵胶膜**（**egg jelly**）。这种糖蛋白网具有许多功能，但最常用于吸引或激活精子。卵是专门用于接受精子并启动发育的细胞。

大多数卵的细胞膜内紧贴着薄层（大约 5 μm）凝胶样细胞质，称为**皮质**（**cortex**）。相对于深层细胞质，这个区域的细胞质具有较大的张力，并且含有高浓度的球状肌动蛋白分子。在受精过程中，这些肌动蛋白聚合以形成肌动蛋白**微丝**（**microfilament**）的长索。微丝是细胞分裂所必需的。它们还被用于延伸卵表面，形成一些称为**微绒毛**（**microvillus**）的小突起，帮助精子进入卵细胞（图 7.4B）。皮质内还有**皮质颗粒**（**cortical granule**；见图 7.4B）。这些膜结合的高尔基体衍生结构含有蛋白水解酶，因此与精子的顶体泡类似。虽然海胆精子只含有一个顶体泡，但每个海胆卵却含有约 15 000 个皮质颗粒。除了消化酶之外，皮质颗粒还含有黏多糖、黏附糖蛋白和透明蛋白。我们马上就会讨论，这些酶和黏多糖有助于防止多精入卵，也就是说它们可以防止第一个精子入卵后其他精子再进入卵，而透明蛋白和黏附糖蛋白包围早期胚胎，为卵裂期的卵裂球提供支持。

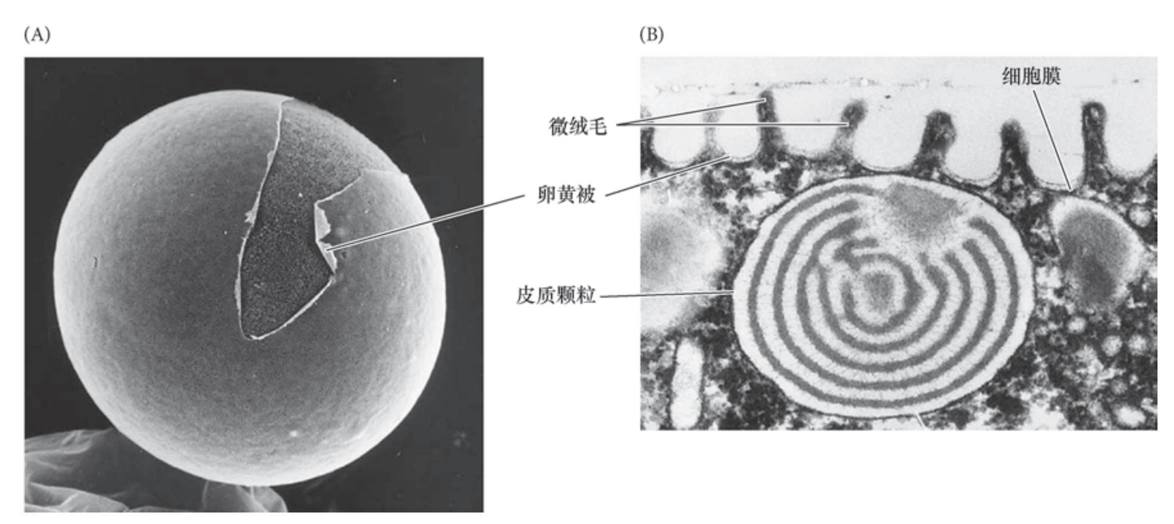


图 7.4　海胆卵的细胞表面。(A) 受精前卵的扫描电子显微照片。细胞膜暴露于卵黄被的撕裂之处。(B) 未受精卵的透射电子显微照片。微绒毛和细胞膜被卵黄被紧密覆盖。一个皮质颗粒直接位于细胞膜下面（来自 Schroeder 1979，由 T. E. Schroeder 提供）。

哺乳动物卵的细胞外被是一层独立的厚基质，称为**透明带**（**zona pellucida**）。哺乳动物的卵还被称为**卵丘**（**cumulus**）的一层细胞包围（图 7.5），卵丘由卵巢的卵泡细胞构成，在卵从卵巢中释放出来时为卵提供营养。哺乳动物的精子必须穿过这层细胞才能使卵受精。紧邻透明带的最内层卵丘细胞称为**放射冠**（**corona radiata**）。

7.1.3　卵与精子的识别

精子与卵的相互作用一般分为以下 5 个步骤（图 7.6；Vacquier 1998）：

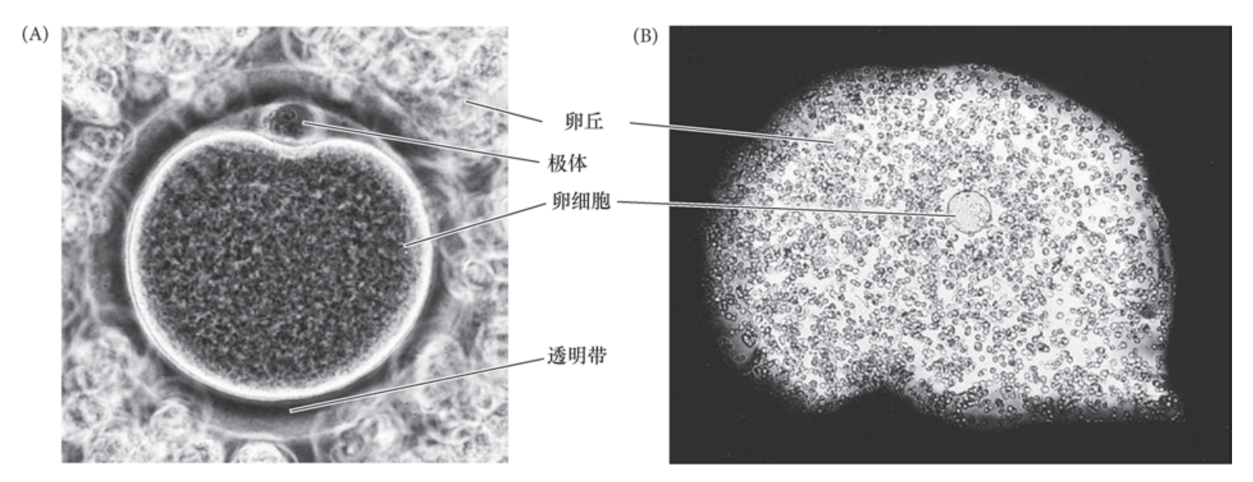
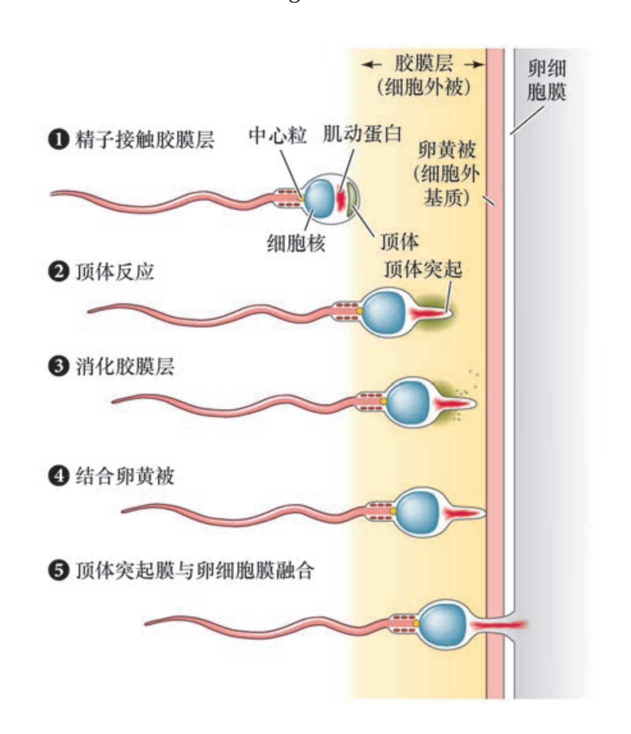


图 7.5 受精前的哺乳动物卵。(A) 仓鼠卵被包裹在透明带内，透明带又被卵丘细胞包围。在透明带内可观察到减数分裂期间产生的极体细胞。(B) 低倍放大显示小鼠卵母细胞被卵丘细胞环绕。胶体碳颗粒（印度墨，这里呈现黑色背景）被透明质基质排除（由 R. Yanagimachi 提供）。



袖珍指南

在一个已经受精的海胆卵中阻止多精入卵的反应可见于受精膜的隆起。在海胆受精这一部分可看到这些非凡的事件。

图 7.6 海胆体外受精过程中引起卵子和精子细胞膜融合事件的概述。①精子受卵子的趋化性吸引和激活。②，③精子与卵胶膜接触后发生顶体反应，形成顶体突起并释放蛋白水解酶。④精子黏附在卵黄被上并在其上溶解出一个孔。⑤精子黏附在卵细胞膜上并与之融合，这时精原核便能进入卵细胞质。

1. 卵子分泌可溶性分子对精子产生化学吸引；
2. 精子顶体泡的胞吐作用及其酶的释放；
3. 精子结合卵子的细胞外基质（卵黄被或透明带）；
4. 精子穿过这个细胞外基质；
5. 卵子和精子细胞膜融合。

完成这些步骤之后，单倍体精核与卵核便可以互相接触，启动发育的一些反应也将开始。本章将在两个被深入研究的生物中重点介绍这些事件：海胆经历体外受精；小鼠进行体内受精。受精事件的一些特殊情况将在后续章节讨论特殊生物体发育时予以描述。

7.2 海胆的体外受精

许多海洋生物将它们的配子释放到环境中。这个环境可以小得像潮汐池，也可以大得像一个海洋，

所有这些配子与其他生物的配子共享同一个水环境。这些生物会面临两个问题：精子和卵子如何在如此低的浓度条件下相遇？精子如何防止与其他物种的卵受精？除了简单的产生大量配子以外，还有两种主要机制可以解决这些问题：物种特异性的**精子吸引**（**sperm attraction**）和**精子活化**（**sperm activation**）。这里我们以海胆为例来描述这些事件。

7.2.1　精子吸引：远距离作用

物种特异的精子吸引在许多物种中已有描述，这包括刺胞动物、软体动物、棘皮动物、两栖类和尾索动物（Miller 1985；Yoshida et al. 1993；Burnett et al. 2008）。在很多物种，精子因**趋化性**（**chemotaxis**）被吸引到同物种的卵，也就是说精子跟随卵子分泌的一个化学物质的梯度分布。这些卵母细胞不仅控制它们所吸引的精子类型，而且还控制吸引精子的时间，卵母细胞只有在成熟后才释放一些趋化因子（Miller 1978）。

趋化性的机制因物种不同而呈现差异（见 Metz 1978；Eisenbach 2004），即使在亲缘关系很近的物种之间，趋化分子也不相同。在海胆，精子只有在被排出后才获得运动活力。精子在精巢中不能运动，因为它们的内部 pH 被生殖腺中高浓度的二氧化碳维持在一个较低的水平（pH 约 7.2）。但是，一旦精子被排到海水中，它们的内部 pH 就会升高到 7.6 左右，这样就能激活动力蛋白 ATP 酶。这个酶水解 ATP 为鞭毛摆动提供能量，并使精子开始活跃游动（Christen et al. 1982）。

精子的运动能力并不能为它们提供方向。在棘皮动物，精子运动的方向性由称为**精子活化肽**（**sperm-activating peptide，SAP**）的趋化肽提供。其中一种精子活化肽是**呼吸活化肽**（**resact**），这是从紫海胆（*Arbacia punctulata*）的卵胶膜中分离出来的一种含有 14 个氨基酸的小肽（Ward et al. 1985）。呼吸活化肽很容易从卵胶膜扩散到海水中，即便是以非常低的浓度加入到紫海胆属（*Arbacia*）的精子悬液中，它仍然能产生显著的作用。将一滴含有海胆精子的海水放在载玻片上，精子通常在直径约为 50 μm 的圆周内游动。在注入少量呼吸活化肽后几秒钟内，精子迁移到加入呼吸活化肽的区域并在那里聚集（图 7.7）。随着呼吸活化肽从注入区域向外扩散，更多的精子被招募，形成越来越大的集群。

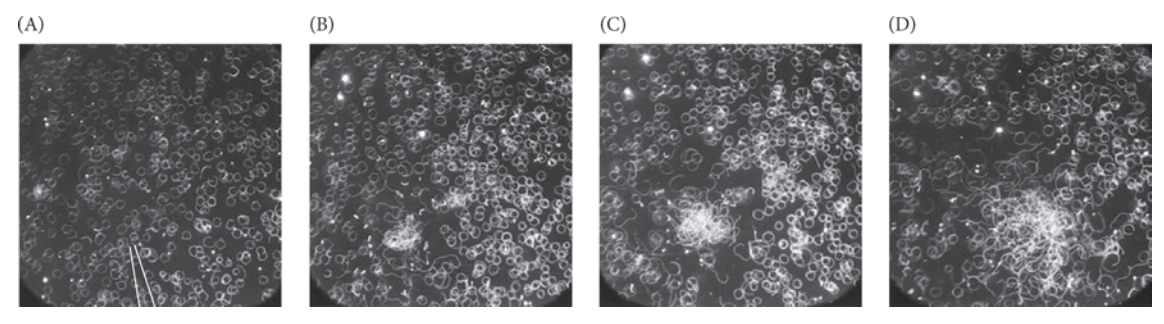


图 7.7　紫海胆的精子趋化性。将 1 nL 10nmol/L 的呼吸活化肽溶液注入一滴 20 μL 的精子悬液。(A) 1 s 的摄影曝光显示添加呼吸活化肽之前精子在小圆圈内游动。注射针的位置用白线表示。(B ～ D) 类似的 1 s 曝光显示精子在注射后 20 s、40 s 和 90 s 时迁移到呼吸活化肽梯度中心。

呼吸活化肽是紫海胆（*A. punctulata*）所特有的，不能吸引其他海胆的精子。一种类似的化合物——精子活化肽，已经从紫色球海胆（*Strongylocentrotus purpuratus*）中分离出来。紫海胆精子的细胞膜上具有结合呼吸活化肽的受体（Ramarao and Garbers 1985；Bentley et al. 1986）。当受体的细胞外部分结合呼吸活化肽时，它就会激活细胞质部分的前体鸟苷酸环化酶（图 7.8）。活化的鸟苷酸环化酶使精子细胞产生更多的环鸟苷酸，激活精子尾部的细胞膜钙通道，使海水中的钙离子（Ca^{2+}）流入尾部（Nishigaki et al. 2000；Wood et al. 2005）。CatSper 基因编码这些精子特异性钙通道，相同的基因也在小鼠和人类控制精子的迁移方向（Seifert et al. 2014）。环鸟苷酸和钙离子浓度的升高激活线粒体的 ATP 生成器和用于刺激精子鞭毛运动的动力蛋白 ATP 酶（Shimomura et al. 1986；Cook and Babcock 1993）。另外，精子通过弯曲

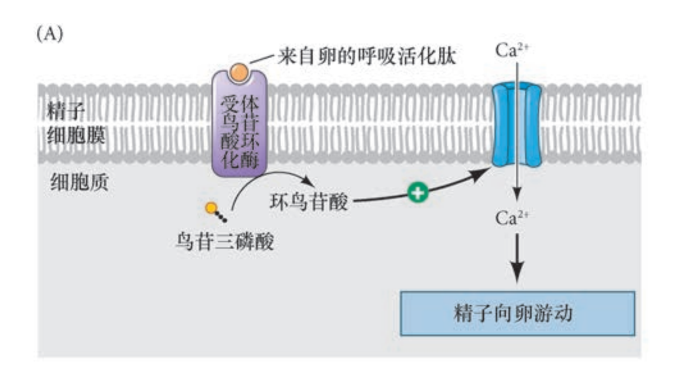
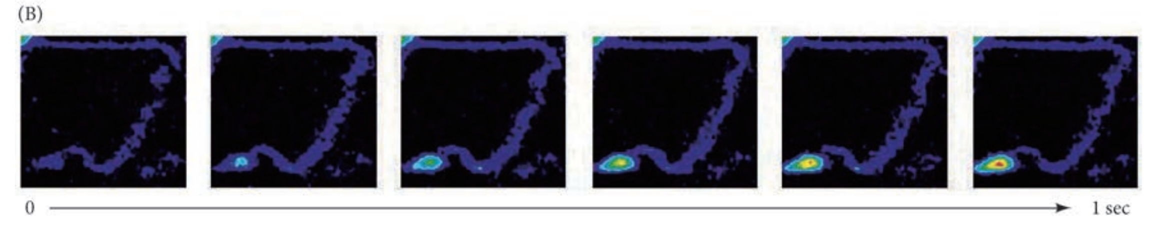


图 7.8 海胆精子的趋化肽模型。(A) 来自紫海胆属（*Arbacia*）卵胶膜的呼吸活化肽与精子上的受体结合，激活受体的鸟苷酸环化酶（RGC）活性，在精子中产生细胞内环鸟苷酸。环鸟苷酸打开精子细胞膜的钙通道，使钙离子进入精子。钙离子的流入激活精子活力，使精子沿呼吸活化肽梯度向卵游动。(B) 暴露于125nmol/L的精子活化肽（呼吸活化肽在紫色球海胆中的类似物）后，紫色球海胆精子不同区域的钙离子水平。红色表示钙离子水平最高，蓝色表示最低。精子头部的钙离子水平在 1 s 内达到峰值（参考 Kirkman-Brown et al. 2003；B 图来自 Wood et al. 2003，由 M. Whitaker 提供）。



尾部来感知精子活化态的浓度梯度，用一个“转弯”交替直线游动以感知环境（Guerrero et al. 2010）。单个呼吸活化肽分子的结合可能足以指引精子的方向，使精子沿着这个化合物的浓度梯度游向卵（Kaupp et al.2003；Kirkman-Brown et al.2003）。因此，呼吸活化肽既是一个精子吸引肽，也是一个精子活化肽。在某些生物，精子吸引和精子活化的功能由不同的化合物来完成。

7.2.2 顶体反应

精子与卵胶膜之间的第二次相互作用导致**顶体反应**（**acrosome reaction**）。在大多数海洋无脊椎动物中，顶体反应有两个组成部分：顶体泡与精子细胞膜的融合（胞吐作用导致顶体泡内含物的释放），以及顶体突起的延伸（Dan 1952；Colwin and Colwin 1963）。海胆的顶体反应被精子与卵胶膜的接触所引发。这种接触导致精子顶体泡的胞吐作用。由此释放的蛋白水解酶和蛋白酶体（蛋白质消化复合物）分解出一条从卵胶膜到卵细胞表面的通道。一旦精子到达卵表面，顶体突起会黏附在卵黄被上，并将精子束缚在卵上。顶体中的蛋白酶体有可能将顶体突起包裹起来，使其在附着点处消化卵黄被之后向卵延伸（Yokota and Sawada，2007）。

在海胆，顶体反应起始于卵胶膜中含硫酸盐的多糖结合精子细胞膜上顶体泡正上方的特异性受体。这些多糖通常具有高度的物种特异性，来自一个海胆物种的卵胶膜因子通常不能在即使是亲缘关系很近的物种中激活顶体反应（图 7.9；Hirohashi and Vacquier 2002；Hirohashi et al. 2002；Vilela-Silva et al. 2008）。因此，顶体反应的激活是种间受精的屏障。在许多物种栖息在同一栖息地以及它们的产卵季节重叠时，这种屏障很重要。

在紫色球海胆，顶体反应由岩藻糖硫酸盐的多重聚合物引发。当这种硫酸多糖与精子上的受体结合时，受体便激活三种精子膜蛋白：①使钙离子进入精子头部的钙转运通道；②将氢离子（H^+）泵出，同时将钠离子（Na^+）泵入精子的钠 - 氢交换泵；③能产生第二信使的肌醇三磷酸（**inositol 1,4,5-trisphosphate，IP_3**），我们将在本章后半部分详细讨论这个蛋白质。肌醇三磷酸能从精子的内部，很可能是顶体，释放钙离子（Domino and Garbers 1988；Domino et al. 1989；Hirohashi and Vacquier 2003）。在相对碱性的细胞质中，升高的钙离子水平使顶体膜与邻近的精子细胞膜融合（图 7.10A ～ C），这使一些酶被释放出来，溶解出一个从卵胶膜到卵黄被的通路。

顶体反应的第二步是通过球状肌动蛋白聚合形成细肌丝（肌动蛋白丝）而产生的顶体突起延伸（图 7.10D；Tilney et al. 1978）。钙离子内流有可能激活顶体区域和精子中段的 RhoB 蛋白（Castellano et al. 1997；de la Sancha et al. 2007）。这种 GTP 结合蛋白在很多类型的细胞中帮助组织肌动蛋白细胞骨架，

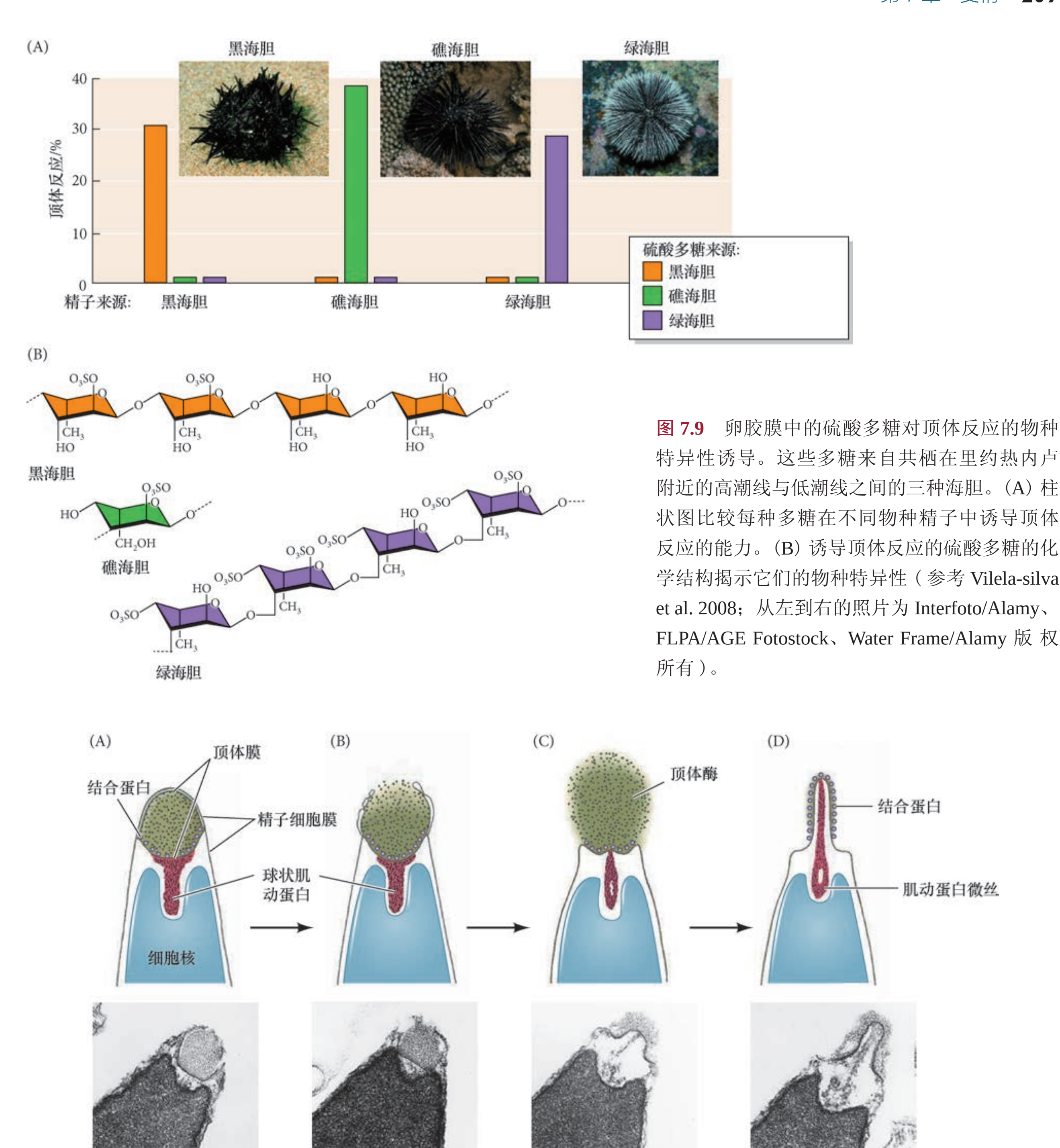


图 7.9　卵胶膜中的硫酸多糖对顶体反应的物种特异性诱导。这些多糖来自共栖在里约热内卢附近的高潮线与低潮线之间的三种海胆。(A) 柱状图比较每种多糖在不同物种精子中诱导顶体反应的能力。(B) 诱导顶体反应的硫酸多糖的化学结构揭示它们的物种特异性（参考 Vilela-silva et al. 2008；从左到右的照片为 Interfoto/Alamy、FLPA/AGE Fotostock、Water Frame/Alamy 版权所有）。

图 7.10　海胆精子的顶体反应。(A ～ C) 位于精子细胞膜正下方的顶体膜与细胞膜融合以释放顶体泡的内含物。(D) 肌动蛋白分子组装成微丝，使顶体突起向外延伸。海胆精子顶体反应的实际照片显示在示意图的下部（参考 Summers and Hylander 1974；照片由 G. L. Decker 和 W. J. Lennarz 提供）。

有研究认为它活跃参与肌动蛋白聚合，进而形成顶体突起。

7.2.3　卵细胞外被的识别

海胆精子与卵胶膜外被的接触提供了第一组物种特异性识别事件（即精子吸引、活化及顶体反应）。另一个关键的物种特异性结合事件必须发生在精子穿过卵胶膜，以及顶体突起与卵表面接触之后（**图 7.11A**）。在海胆中介导这种识别的顶体蛋白是一种不溶性、分子质量为 30 500Da 的蛋白质，称为**结合**

蛋白（**bindin**）。1977 年，Vacquier 及其同事从紫色球海胆的顶体中分离出结合蛋白，发现它能够结合相同物种的去胶膜卵。此外，精子的结合蛋白与卵胶膜的多糖一样，通常具有物种特异性：从紫色球海胆的顶体中分离的结合蛋白结合同种的去胶膜卵，但不结合巨紫球海胆（*S. franciscanus*）的去胶膜卵（图 7.11B；Glabe and Vacquier 1977；Glabe and Lennarz 1979）。



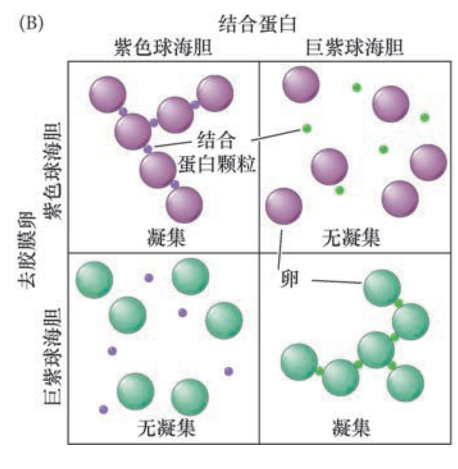


图 7.11　海胆顶体突起与卵表面的物种特异性结合。（A）精子顶体突起与卵微绒毛的实际接触。（B）物种特异性结合的体外模型。将结合蛋白颗粒添加到含有卵悬液的塑料孔后，测量结合蛋白对去胶膜卵的凝集。轻度摇动 2 ～ 5 min 后拍照。每种结合蛋白仅结合并凝集相同物种的卵（A 图来自 Epel 1977，由 F. D. Collins 和 D. Epel 提供；B 图根据 Glabe and Vacquier 1978）。

生化研究已经证实，亲缘关系很近的海胆物种的结合蛋白具有不同的蛋白质序列。这一发现提示，卵黄被上应该有物种特异性的**结合蛋白受体**（**bindin receptor**；图 7.12A）。的确，一种具有结合蛋白受体的预期特性，分子质量为 350 kDa 的糖蛋白已经从海胆卵中分离出来（图 7.12B；Kamei and Glabe 2003）。这些结合蛋白受体被认为能在卵黄被上聚集成复合物，可能需要数百个这样的复合物才能将精子束缚在卵上。卵黄被上的精子结合蛋白受体似乎以物种特异性的方式识别顶体上结合蛋白的蛋白质部分（图 7.12C）。亲缘关系很近的海胆（如同属中的不同物种）具有不同的结合蛋白受体，并且卵子只结合相同物种的结合蛋白（图 7.12D）。因此，海胆配子的物种特异性识别可以发生在精子吸引、精子活化、顶体反应、精子与卵表面黏附的各个环节。

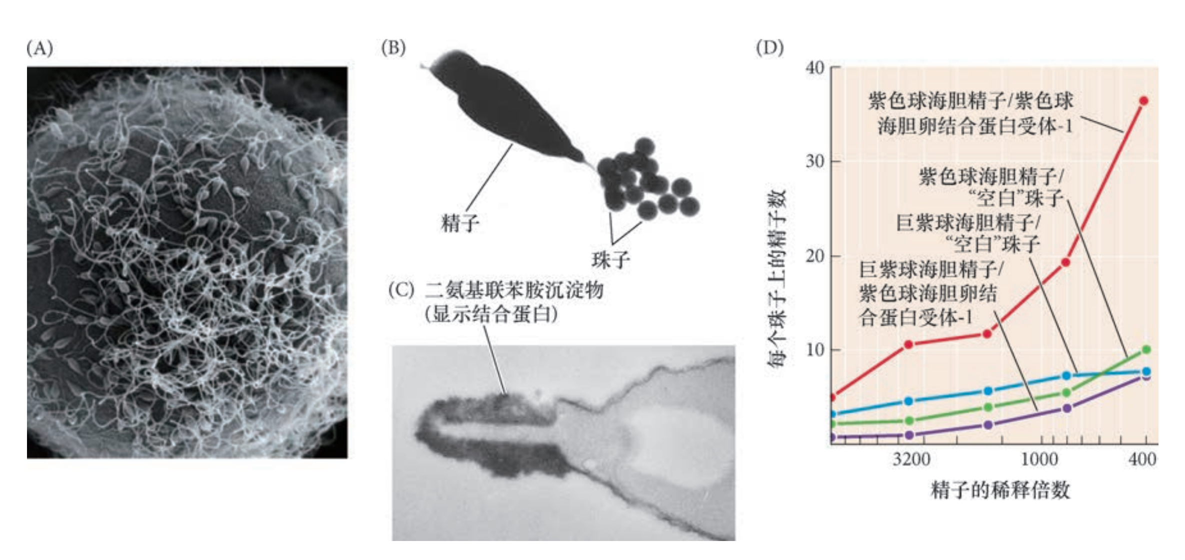


图 7.12　海胆卵的结合蛋白受体。（A）海胆精子结合卵黄被的扫描电子显微照片。虽然这个卵被精子饱和，但其表面似乎仍有可与更多精子接触的空间，这意味着结合蛋白受体的数量有限。（B）紫色球海胆精子与包被有纯化结合蛋白受体的聚苯乙烯珠子相结合。（C）在顶体反应后，免疫化学标记显示结合蛋白（标记表现为 DAB 的深色沉淀）定位于顶体突起。（D）海胆精子与卵结合蛋白受体结合的物种特异性。紫色球海胆精子与包被有纯化自紫色球海胆的卵结合蛋白受体的珠子相结合，但巨紫球海胆精子不结合。精子与空白珠子也不结合（A 图为 Mia Tegner/SPL/Science Source 版权所有；B 图来自 Foltz et al. 1993；C 图来自 Moy and Vacquier 1979，由 V. Vacquier 提供；D 图参考 Kamei and Glabe 2003）。

结合蛋白和其他配子识别蛋白是已知进化最快的蛋白质之一（Metz and Palumbi 1996；Swanson and Vacquier 2002）。即使是在亲缘关系很近的海胆物种中，其他所有的蛋白质几乎完全相同，但结合蛋白和结合蛋白受体也可能有显著差异。

7.2.4　卵与精子的细胞膜融合

一旦精子与卵接触并完成了顶体反应，精子与卵的细胞膜就开始融合（图 7.13）。精卵融合似乎引起卵中肌动蛋白的聚合（Summers et al. 1975），形成一个**受精锥**（**fertilization cone**）。精子与卵之间的类似性再一次体现出来，因为精子的顶体突起似乎也由肌动蛋白的聚合而形成。来自配子的肌动蛋白形成一个连接，使精子与卵之间的细胞质桥变宽。精子核和尾部通过这个细胞质桥入卵。

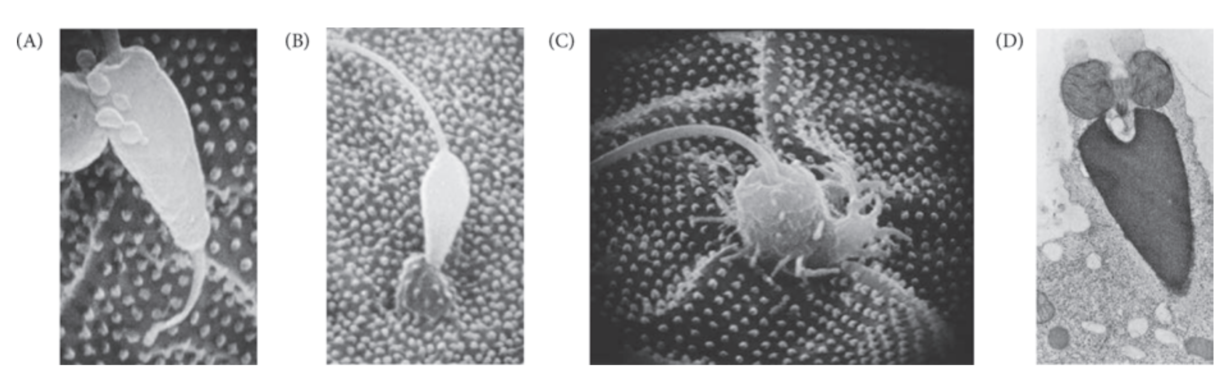


图 7.13　精子进入海胆卵的扫描电子显微照片。(A) 精子头部通过顶体突起与卵微绒毛接触。(B) 受精锥的形成。(C) 精子入卵。(D) 精子通过受精锥进行内化的透射电子显微照片（A ～ C 图来自 Schattenand Mazia 1976，由 G. Schatten 提供；D 图由 F. J. Longo 提供）。

融合是一个主动的过程，通常由特异的“促融合”蛋白介导。在海胆，结合蛋白能作为促融合蛋白发挥第二个作用。除了识别卵之外，结合蛋白在其氨基末端附近具有一长串的疏水氨基酸，这个区域可以在体外使磷脂泡融合（Ulrich et al. 1999；Gage et al. 2004）。在成熟的未受精卵所具备的离子条件下，结合蛋白能引起精子和卵细胞膜的融合。

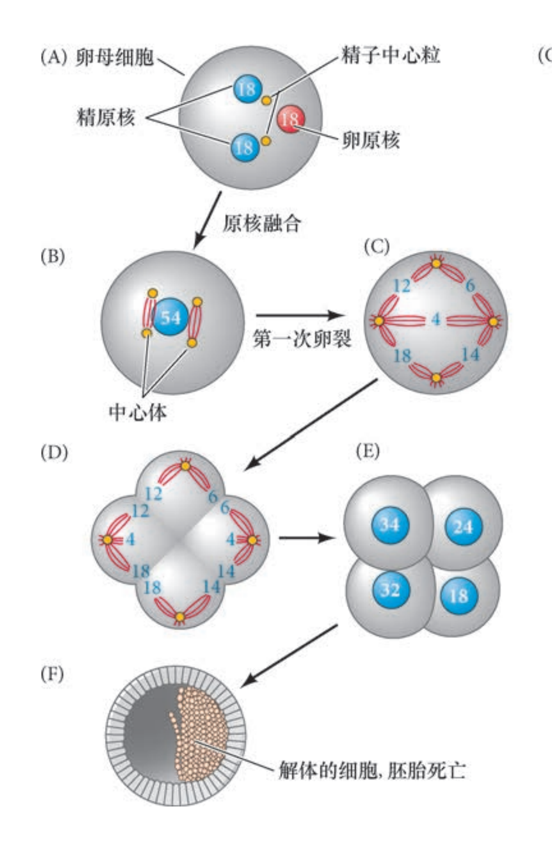
7.2.5　一个卵子，一个精子

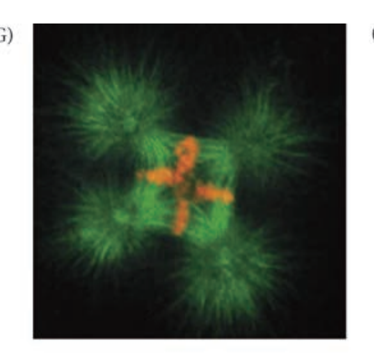
一旦一个精子进入卵，对精子入卵所需的卵细胞膜的熔融性就成为一种风险。正常情况下是**单精入卵**（**monospermy**），即只有一个精子进入卵，单倍体的精核与单倍体的卵核融合形成受精卵（合子）的二倍体核，恢复这个物种的正确二倍体染色体数目。在卵裂过程中，精子提供的中心粒分裂形成有丝分裂纺锤体的两极，而卵的中心粒则被降解。

在大多数动物，任何进入卵的精子都能提供一个单倍体核和一个中心粒。如果多个精子入卵，即**多精入卵**（**polyspermy**），就会造成灾难性的后果。在海胆，双精受精产生三倍体核，每一对染色体变成三条而不是两条。更严重的是，每一个精子的中心粒都分裂形成有丝分裂器，因此，本应该是一个两极的有丝分裂纺锤体将染色体均分到两个细胞，三倍体染色体被分配到多达四个细胞，一些细胞接收某些染色体的额外拷贝，其他细胞则没有染色体（图 7.14）。Theodor Boveri 于 1906 年证实这些细胞或者死亡，或者畸形发育。

7.2.6　多精入卵的快阻断

防止两个以上单倍体细胞核结合的最直接方法是阻止超过一个精子入卵。有不同的机制能够防止多精入卵，其中两种可见于海胆。一个初始的快反应由卵细胞膜的电位变化完成，然后跟随一个由皮质颗粒胞吐作用引起的慢反应（Just 1919）。





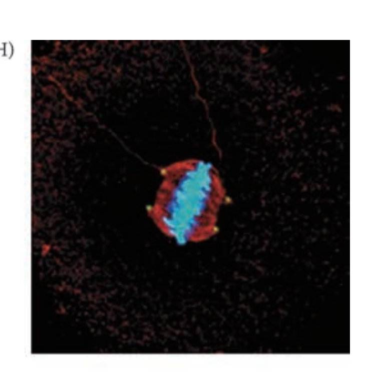


图 7.14　海胆卵双精受精时的异常发育。(A) 三个单倍体细胞核的融合，每个细胞核含有 18 条染色体，两个精子中心粒分裂形成四个中心体（有丝分裂极）。(B，C) 54 条染色体随机分配在四个纺锤体上。(D) 第一次分裂的后期，复制的染色体被拉到四个极点。(E) 形成含有不同数量和类型的染色体的四个细胞，从而导致胚胎的早期死亡 (F)。(G) 一个与 (D) 类似的双精受精海胆卵的第一次分裂中期。微管被染成绿色；DNA 被染成橙色。三倍体的 DNA 被分到染色体不均衡的四个细胞，而不是具有同等染色体组的两个细胞。(H) 人类双精受精卵的首次分裂。四个中心粒被染成黄色，纺锤体的微管（和两个精子尾部）被染成红色。由这四个极分开的三组染色体被染成蓝色 (A ～ F 图参考 Boveri 1907；G 图由 J. Holy 提供；H 图来自 Simerly et al. 1999，由 G. Schatten 提供）。

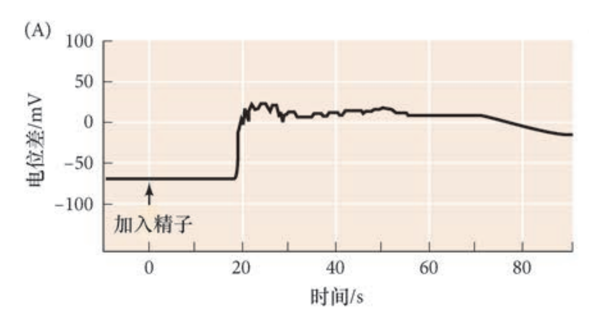
多精入卵的快阻断（**fast block to polyspermy**）由精子入卵后立即发生的卵细胞膜电位变化来实现。精子与卵一旦融合，来自精子的一些可溶性物质（可能是烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸，NAADP）使卵细胞膜发生变化（McCulloh and Chambers 1992；Wong and Wessel 2013）。钠通道被关闭，钠离子被阻止进入卵内，卵细胞膜在卵内部与外环境之间维持一个电压差。这种**静息膜电位**（**resting membrane potential**）通常约为 70mV，表示为 –70mV，因为细胞内相对于细胞外带负电荷。在第一个精子结合后的 1 ～ 3 s 内，膜电位相对于外部转变为正水平，达到约 +20mV（图 7.15A；Jaffe 1980；Longo et al. 1986）。从负电到正电的转变是钠离子通过新打开的钠通道向卵内少量流入的结果。精子不能与具有正电位的卵细胞膜融合，所以这种转变意味着不能有更多的精子与卵融合。

Laurinda Jaffe 及其同事证明了钠离子及静息电位从负到正发生变化的重要性。他们发现，如果施加电流而人为地保持海胆卵细胞膜的负电位，这样可以诱导多精入卵。相反，将卵的膜电位维持在正水平可以完全阻止受精（Jaffe 1976）。降低周围水环境中的钠离子浓度便不能发生多精入卵的快阻断（图 7.15B）。如果因为钠离子供应不足而引起膜电位的正转变，就会发生多精入卵（Gould-Somero et al. 1979；Jaffe 1980）。蛙中也有一种对多精入卵的电阻断（Cross and Elinson 1980；Iwao et al. 2014），但大多数哺乳动物可能不具备这种机制（Jaffe and Cross 1983）。

网络话题 7.3　多精入卵的阻断　Theodor Boveri 和 E. E. Just 的研究对阐明多精入卵的阻断机制有关键的作用。

7.2.7　多精入卵的慢阻断

多精入卵的快阻断只是短暂的，因为海胆卵膜电位的正值仅维持大约 1 min。这个短暂的电位改变不足以长时间阻止多精入卵，如果结合在卵黄被上的精子不能被清除，多精入卵仍有可能发生（Carroll and Epel 1975）。多余精子的清除是卵通过**皮质颗粒反应**（**cortical granule reaction**），也称为**多精入卵的慢阻断**（**slow block to polyspermy**）来实现的。这种慢的机械阻断在第一个精子与卵成功融合大约 1 min 后被



(B)

Na⁺	多精受精的卵 /%
490	22
360	26
120	97
50	100

图 7.15 海胆卵在受精前后的膜电位。(A) 在加入精子之前，卵细胞膜两侧的电位差约为 –70 mV。精子接触卵后的 1 ～ 3 s 内，电位向正值转变。(B，C) 绿海胆卵在第一次卵裂时的照片。(B) 图表显示多精入卵随钠浓度的降低而上升。对照卵在 490 mmol/L 的钠离子中发育。盐水中有约 600 mmol/L 的钠离子（参考 Jaffe 1980；B 图由 L. A. Jaffe 提供）。

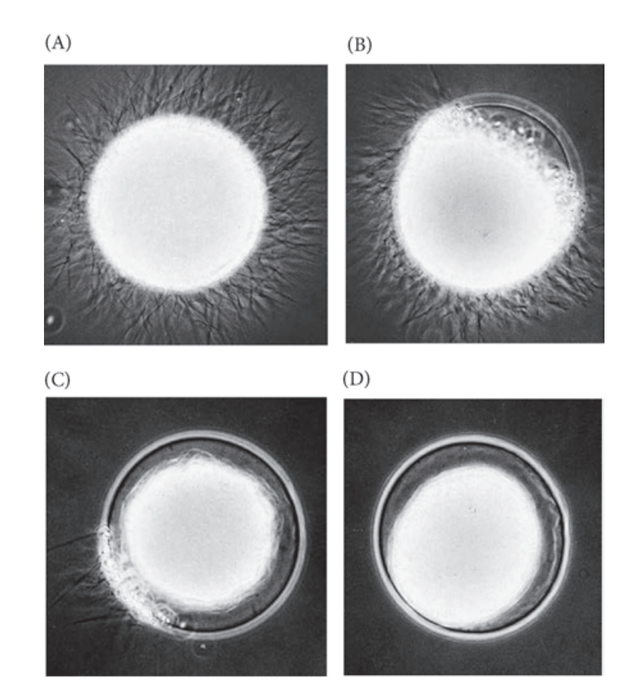
拓展性问题

在含盐的海水中，钠离子可以很容易地阻断多精入卵。在淡水池塘中，两栖类也使用离子通道实现多精入卵的快阻断。在缺少海洋中高浓度钠离子的环境中，这是如何实现的？

激活 (Just 1919)。这个反应见于很多物种，包括海胆和大多数哺乳动物。

紧位于海胆卵细胞的膜下大约有 15 000 个皮质颗粒，每个颗粒的直径约为 1 μm（见图 7.4B）。精子入卵后，皮质颗粒与卵细胞膜融合，将其中的内含物释放到细胞膜与卵黄被蛋白纤维网之间的空隙。多种蛋白质通过皮质颗粒的胞吐作用被释放。其中一种是皮质颗粒丝氨酸蛋白酶，它分解连接卵黄被蛋白和细胞膜之间的蛋白柱；它也能切除结合蛋白受体及与之附着的精子 (Vacquier et al. 1973；Glabe and Vacquier 1978；Haley and Wessel 1999，2004)。

皮质颗粒的成分与卵黄被结合后形成一个**受精膜** (**fertilization envelope**)。受精膜在精子入卵处开始形成，再扩展围绕整个卵。这个过程在精子附着后约 20 s 开始，并在受精后约 1 min 内结束（图 7.16；Wong and Wessel 2004，2008)。



袖珍指南

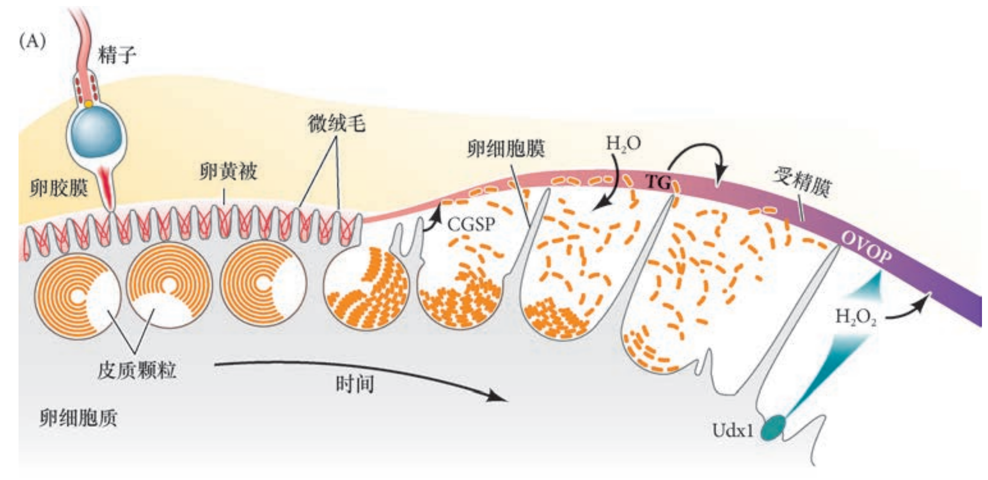
非洲裔美国胚胎学家 Ernest Everett Just 在 20 世纪初期发现了多精入卵的两种阻断方式。海胆发育这一部分有 Just 对这些胚胎进行研究的视频。

图 7.16 受精膜的形成以及多余精子的去除。为了制作这些照片，精子被加入到海胆的卵中，然后将悬液用甲醛固定以防止进一步反应。(A) 加入精子 10 s 后，精子包围卵。(B，C) 分别在受精后 25 s 和 35 s，从精子入卵处开始在卵周围形成受精膜。(D) 受精膜完全形成，多余的精子已被去除。

观察发育 7.1 观看受精膜从卵表面隆起。

受精膜通过皮质颗粒释放的黏多糖从细胞膜隆起。这些黏稠的化合物吸收水分以扩张细胞膜和受

精膜之间的空隙，从而使受精膜径向远离卵。卵特异的过氧化物酶和从皮质颗粒释放的转谷氨酰胺酶交联邻近的蛋白质使受精膜稳定（图 7.17；Foerder and Shapiro 1977；Wong et al 2004；Wong and Wessel 2009）。这种交联使卵和早期胚胎能够抵抗海洋潮间波产生的剪切力。这时，包括透明蛋白在内的第四组皮质颗粒蛋白在卵周围形成一个被膜（Hylander and Summers 1982）。卵延伸出的长微绒毛顶端附着在**透明层（hyaline layar）**，在卵裂过程中为卵裂球提供支持。



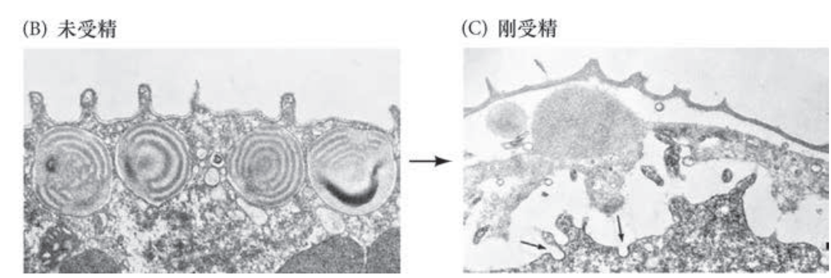


图 7.17　皮质颗粒胞吐作用和海胆受精膜的形成。(A) 受精膜形成事件的示意图。皮质颗粒通过胞吐作用释放皮质颗粒丝氨酸蛋白酶（CGSP），切割连接卵黄被和细胞膜的蛋白质。皮质颗粒释放的黏多糖形成一个渗透梯度，使水进入并膨胀卵黄被和细胞膜之间的空间。位于之前的皮质颗粒膜上的海胆双重氧化酶（Udx1）催化过氧化氢（H_2O_2）的形成。过氧化氢是可溶性卵过氧化物酶（OVOP）的底物。卵过氧化物酶和转谷氨酰胺酶（TG）硬化卵黄被，这时称为受精膜。(B，C) 未受精和刚受精海胆卵皮质的透射电子显微镜照片。在 (C) 图中可见受精膜隆起，以及皮质颗粒与卵细胞膜融合的位点（箭所示）（A 图参考 Wong et al. 2008；B 图和 C 图来自 Chandler and Heuser 1979，由 D. E. Chandler 提供）。

7.2.8　钙离子启动皮质颗粒反应

皮质颗粒胞吐作用的机制与顶体的胞吐作用机制相似，并可能涉及相同的分子。在受精时，卵细胞质中的游离钙离子浓度显著增加。在这种高浓度的钙离子环境中，皮质颗粒膜与卵细胞质膜融合，释放其内含物（见图 7.17A）。一旦皮质颗粒在精子入卵处附近开始融合，皮质颗粒胞吐作用会绕皮质传播到卵的对侧。

在海胆和哺乳动物，参与皮质反应的钙离子浓度升高不是细胞外钙离子流入卵的结果，而是来自卵本身。细胞内储存的钙离子释放可用钙激活的发光染料，如水母蛋白（像绿色荧光蛋白一样，也是一个从发光水母中分离出来的蛋白质）或钙离子荧光探针 fura-2 进行监测。这些染料结合游离钙离子之后能发光。将染料注入海胆卵后进行受精，一个显著的钙离子释放波就会在卵中传播，并能显示出一条光带从精子入卵点开始向卵的对侧延伸（图 7.18；Steinhardt et al. 1977；Hafner et al. 1988）。钙离子的释放大约在 30 s 内结束，游离的钙离子在被释放后不久又重新被隔离。

观察发育 7.2　这段海胆受精的视频显示钙离子波起始于精子附着点并穿过整个卵。

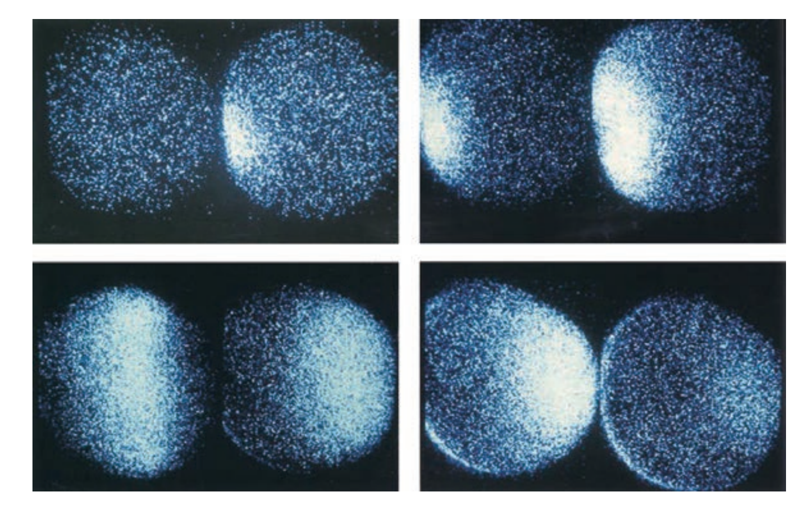


图 7.18　受精过程中穿过海胆卵的钙释放。卵被预载了结合钙离子后能发荧光的染料。精子与卵融合时产生一个钙离子释放波，起始于精子入卵位点并传播至整个卵。这种波并不是简单的扩散，而是主动传播，穿过整个卵的时间大约需要 30 s（由 G.Schatten 提供）。

有一些实验证明钙离子直接参与皮质颗粒反应的传播，而且这些离子储存在卵的内部。 A23187 药物是一个钙离子载体，这个化合物能使一些离子（如钙离子）穿过脂膜扩散。将未受精的海胆卵置入含有 A23187 的海水中能起始皮质颗粒反应和受精膜的隆起。而且，这种反应能在没有任何钙离子的水中发生，因此 A23187 一定是刺激了已经被隔离在卵细胞器内的钙离子的释放。

在海胆和脊椎动物（但不在蜗牛和线虫），参与皮质颗粒反应的钙离子储存在卵的内质网（Eisen and Reynolds 1985；Terasaki and Sardet 1991）。在海胆和蛙，这种内质网在皮质中很明显，并且位于皮质颗粒的周围（图 7.19；Gardiner and Grey 1983；Luttmer and Longo 1985)）。皮质颗粒本身被一些跨膜蛋白附着在卵细胞膜上，这些跨膜蛋白有利于钙离子介导的胞吐作用（Conner et al. 1997；Conner and Wessel 1998）。因此，一旦钙离子从内质网释放出来，皮质颗粒就与其上的细胞膜融合。这个过程一旦启动，钙离子释放就自行传播。游离的钙离子能使隔离的钙离子从储存位点释放出来，从而引起一个钙离子释放波和皮质颗粒的胞吐作用。

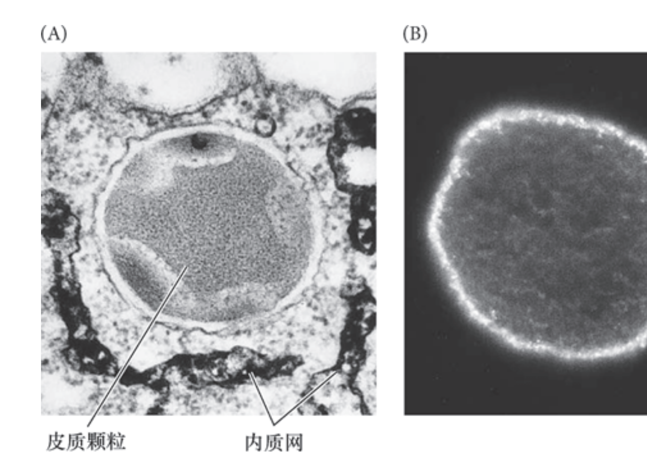


图 7.19　海胆卵中皮颗粒周围的内质网。(A) 内质网被染色以便在透射电镜下观察。皮质颗粒被深色染色的内质网包围。(B) 用钙依赖性钙释放通道的荧光抗体染色整个卵。抗体显示皮质内质网中的这些通道（A 图来自 Luttmer and Longo 1985，由 S. Luttmer 提供；B 图来自 McPherson et al. 1992，由 F. J. Longo 提供）。

7.3　海胆卵代谢的激活

尽管受精一直被认为仅仅是使两个单倍体核融合的手段，但它对启动胚胎发育的一些过程也同样有重要作用。这些事件发生在细胞质中且没有细胞核的参与[3]。除了启动多精入卵的慢阻断（通过皮质颗粒的胞吐作用），精子入卵时发生的钙离子释放还对激活卵代谢和启动发育至关重要。钙离子解除母体信使

[3] 在一些蝾螈中，受精的作用（如启动胚胎的发育）已经完全脱离遗传功能。银蝾螈中的蓝点钝口螈（*Ambystoma platineum*）是仅有雌性的杂交亚种。每个雌性产生一个染色体未减少的卵细胞。但是，这个卵自身不能发育，所以这种银蝾螈与雄性的杰斐逊钝口螈（*A. jeffersonianum*）交配。杰斐逊钝口螈的精子仅仅是为了刺激卵的发育，而不提供遗传物质（Uzzell 1964）。关于这种复杂机制的生殖的详情可见 Bogart 等（1989，2009）。

的抑制物，使得这些 mRNA 能够被翻译；钙离子也解除细胞核分裂的抑制，从而启动卵裂的发生。事实上，钙离子在整个动物界的受精过程中都被用于激活发育。

7.3.1 细胞内钙离子的释放

不同物种之间钙离子的释放方式不同（见 Parrington et al. 2007）。Jacques Loeb（1899，1902）首次提出的一种方式是，精子中的一种可溶性因子在精卵融合时进入卵，这个物质通过改变卵细胞质的离子组成而激活卵（图 7.20A）。如我们将要在下面看到的那样，哺乳动物可能采用这种机制。Loeb 的竞争者 Frank Lillie（1913）提出的另一种机制是精子结合卵表面的受体并改变受体的构象，从而在细胞内启动激活卵的一些反应（图 7.20B）。海胆可能使用这种机制。

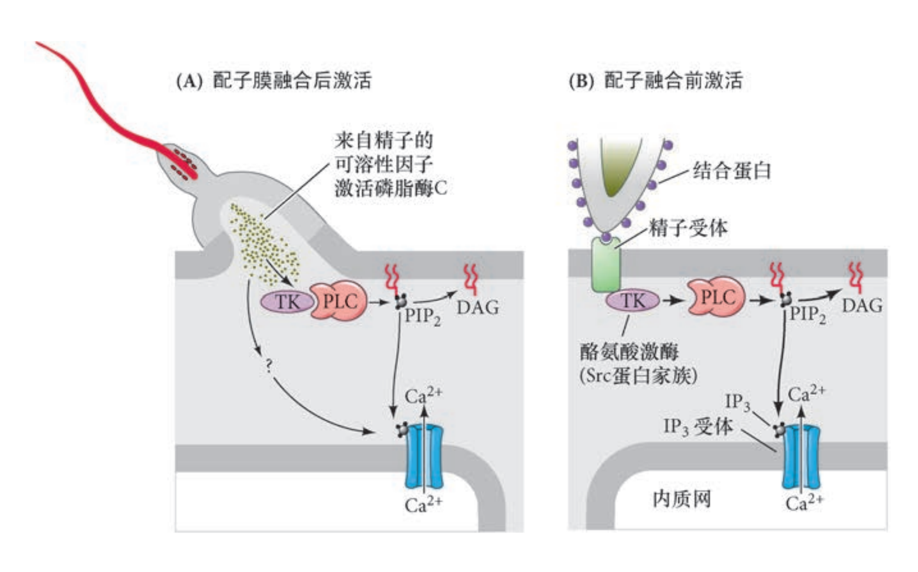


图 7.20 卵激活的可能机制。在这两个例子中，一个磷脂酶 C（PLC）被激活并且产生肌醇三磷酸和二酰甘油。(A) 直接来自精子的活化磷脂酶 C 或者精子中某种激活卵中磷脂酶 C 的物质刺激钙离子释放和卵激活。这可能是哺乳动物卵的激活机制。(B) 结合蛋白受体（可能通过 G 蛋白发挥作用）激活酪氨酸激酶（一个 Src 蛋白激酶），这个激酶进而激活磷脂酶 C。这可能是海胆卵的激活机制。PIP_2：磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸；DAG：二酰甘油；IP_3：肌醇三磷酸。

肌醇三磷酸：钙离子的释放者 如果来自卵内质网的钙离子参与皮质颗粒反应和发育的重新激活，那么是什么释放了钙离子？在整个动物界，已经发现**肌醇三磷酸**（**inositol 1,4,5-trisphosphate，IP_3**）是从细胞内释放储存的钙离子的首要信号。

肌醇三磷酸信号途径如图 7.21 所示。细胞膜的**磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸**（**phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate，PIP_2**）通过**磷脂酶 C**（**phospholipase C，PLC**）被分解成两种活性化合物：肌醇三磷酸和**二酰甘油**（**diacylglycerol，DAG**）。肌醇三磷酸通过打开内质网的钙通道将钙离子释放到细胞质。二酰甘油激活蛋白激酶 C，蛋白激酶 C 反过来激活另一种蛋白质，将氢离子交换成钠离子，从而升高卵内的 pH（Nishizuka 1986；Swann and Whitaker 1986）；钠氢泵也需要钙离子。因此，磷脂酶 C 的激活是钙离子释放和卵被碱化的结果，并且这个激活所产生的两种组分，即肌醇三磷酸和二酰甘油，也参与发育的启动。

> **观察发育 7.3** 肌醇三磷酸参与受精的视频。

在海胆卵，肌醇三磷酸最初产生于精子入卵处，并且在精卵接触几秒内就能被检测到。抑制肌醇三磷酸的合成会阻止钙离子释放（Lee and Shen 1998；Carroll et al. 2000），注射肌醇三磷酸能释放隔离的钙离子并引起皮质颗粒的胞吐作用（Whitaker and Irvine 1984；Busa et al. 1985）。而且，肌醇三磷酸介导的这些效果能通过在卵内提前注射钙螯合剂而被阻断（Turner et al. 1986）。

目前已经在卵的内质网中发现应答肌醇三磷酸的钙离子通道。形成于精子入卵处的肌醇三磷酸被认为能结合内质网钙通道上的肌醇三磷酸受体，导致钙离子的局部释放（Ferris et al. 1989；Furuichi et al. 1989）。一旦释放，钙离子能直接扩散，或者通过结合钙促的钙释放受体促进更多的钙释放，这个受体也

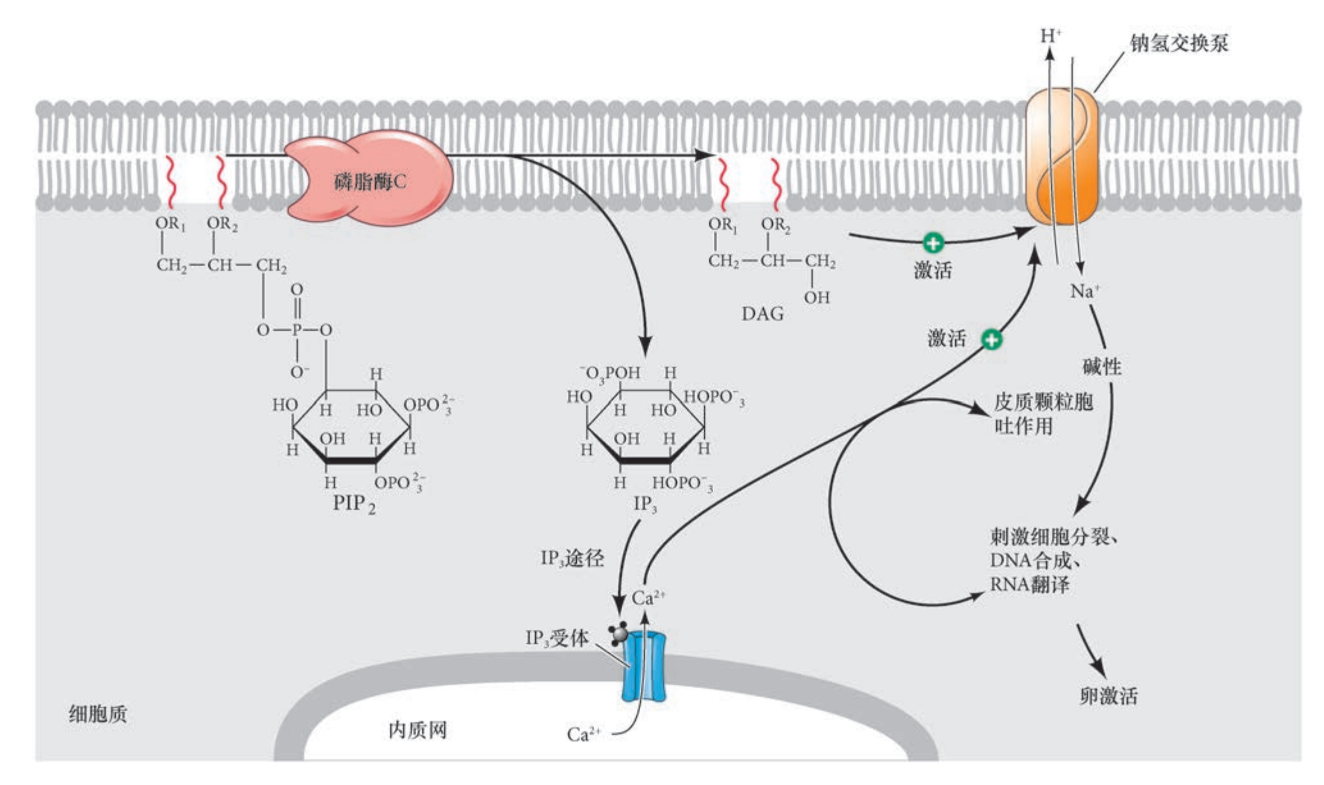


图 7.21　肌醇三磷酸从内质网释放钙离子和启动发育的作用。磷脂酶 C 将磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸分解成肌醇三磷酸和二酰甘油。肌醇三磷酸从内质网中释放钙离子，而二酰甘油辅助钙离子释放，并且激活膜上的钠氢交换泵。PIP_2：磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸；DAG：二酰甘油；IP_3：肌醇三磷酸

位于皮质内质网（McPherson et al. 1992）。它们结合钙离子后便能释放储存的钙离子，所以结合钙离子会释放更多的钙离子，等等。这样产生的钙离子释放波从精子入卵处传播到整个细胞（见图 7.18）。皮质颗粒，在高浓度的钙离子情况下与细胞膜融合，以胞吐作用的波来应答钙释放波。Mohri 及其同事（1995）证明，肌醇三磷酸释放的钙离子对启动钙释放波既是必需的，也是充分的。

磷脂酶 C：肌醇三磷酸的发生器　如果肌醇三磷酸对钙离子释放是必需的，而磷脂酶 C 对于肌醇三磷酸的产生也是必需的，那么是什么激活了磷脂酶 C？这个问题并不容易回答，因为：①磷脂酶 C 的类型有很多种；②它们能被不同的途径激活；③不同物种以不同的机制激活磷脂酶 C。在海胆卵中的研究表明，棘皮动物中被激活的磷脂酶 C 类型是 γ 家族的磷脂酶 C（PLCγ）（Carroll et al. 1997，1999；Shearer et al. 1999）。PLCγ 的特异性抑制物可以阻断肌醇三磷酸的生成和钙离子的释放。而且，向卵内显微注射肌醇三磷酸可以逆转抑制物的作用。PLCγ 如何被精子激活还有争议，尽管通过对抑制物的研究发现膜结合型的激酶（Src 蛋白激酶）和 GTP 结合蛋白可能有关键作用（图 7.22；Kinsey and Shen 2000；Giusti et al. 2003；Townley et al. 2009；Voronina and Wessel 2003，2004）。有一种可能性是，精子带入的烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸（NAADP）既能启动电去极化，也能激活导致肌醇三磷酸产生和钙离子释放的酶级联反应（Churchill et al. 2003；Morgan and Galione 2007）。

7.3.2　钙释放的作用

卵内的钙流激活一系列预设的代谢事件。海胆卵对精子的应答可分为“早期”应答和“晚期”应答，分别发生在皮质颗粒反应后的几秒钟内和受精开始后的几分钟内（表 7.1）。

早期应答　如我们已经看到的那样，海胆卵和精子的接触或融合激活两种阻断多精入卵的方式：①快阻断，受钠离子流入细胞所介导；②皮质颗粒反应，或慢阻断，由胞内钙离子释放所介导。参与皮质颗粒反应的钙离子释放也影响卵重新进入细胞周期以及卵中蛋白质合成的重新激活。卵中钙离子的含量从

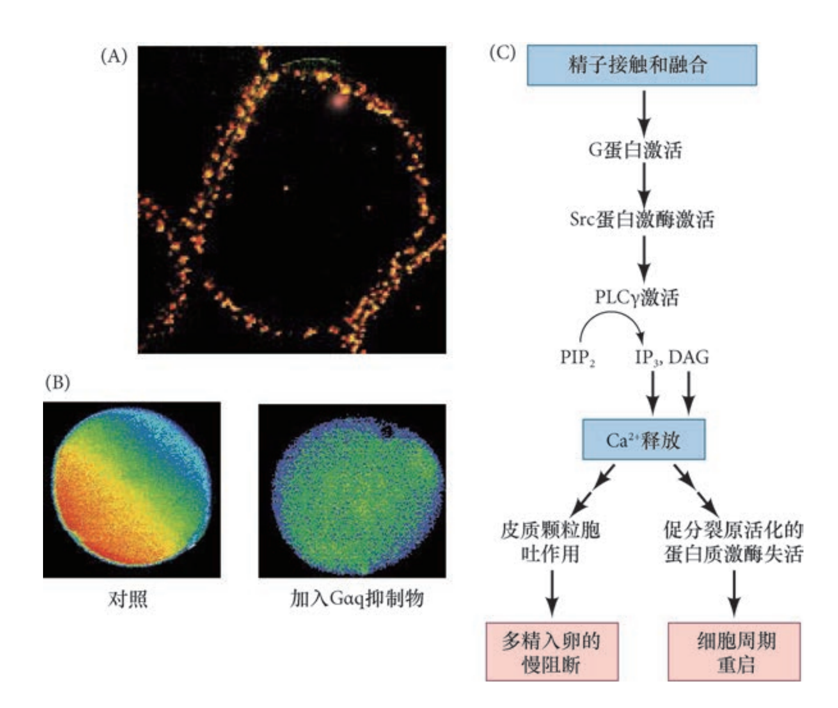


图 7.22 G 蛋白在海胆中调节钙离子进入卵。(A) 成熟的海胆卵中被免疫标记的皮质颗粒透明蛋白（红色）和 G 蛋白 Gαq（绿色）。信号的重叠产生黄色，Gαq 定位在皮质。(B) 对照组卵中出现一个钙波（电脑增强显示相对密度，红色代表最高），但在注射 Gαq 蛋白抑制物的卵中没有钙波出现。(C) 钙离子内流激活卵的可能模型。PLCγ：磷脂酶 Cγ；PIP_2：磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸；IP_3：肌醇三磷酸；DAG：二酰甘油（参考 Voronina and Wessel 2003；照片由 G. M. Wessel 提供）。

0.05 μmol/L 增加到 1 ～ 5 μmol/L，在几乎所有的物种中，这种钙浓度的升高从精卵结合处开始以一个波或一连串波的形式穿过卵（见图 7.18；Jaffe 1983；Terasaki and Sardet 1991；Stricker 1999）。

表 7.1　海胆受精时发生的事件

事件	受精后大约时间 [a]
早期事件	
精卵结合	0 s
受精电位升高（多精入卵的快阻断）	1 s 内
精卵细胞膜融合	1 s 内
最早检测到钙离子升高	10 s
皮质颗粒胞吐作用（多精入卵的慢阻断）	15 ～ 60 s
晚期事件	
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）激酶激活	从 1 min 开始
氧化型（$NADP^+$）和还原型（NADPH）辅酶 II 升高	从 1 min 开始
氧消耗升高	从 1 min 开始
精子入卵	1 ～ 2 min
酸外流	1 ～ 5 min
pH 升高（维持）	1 ～ 5 min
精子染色质去致密	2 ～ 12 min
精核迁移到卵中央	2 ～ 12 min
卵核迁移到精核	5 ～ 10 min
蛋白质合成激活	从 5 ～ 10 min 开始
氨基酸转运激活	从 5 ～ 10 min 开始
DNA 合成起始	20 ～ 40 min
有丝分裂	60 ～ 80 min
第一次卵裂	85 ～ 95 min

主要来源：Whitaker and Steinhardt 1985；Mohri et al. 1995。

[a] 大约时间基于以下数据：*S. purpuratus*（15 ～ 17℃），*L. pictus*（16 ～ 18℃），*A. punctulata*（18 ～ 20℃），*L. variegatus*（22 ～ 24℃）。这些事件在 1 min 内的时间在 *L. variegatus* 最为明确，因此所列出的时间来自这个物种。

钙释放激活一系列启动胚胎发育的代谢反应（图 7.23）。其中之一包括烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（辅酶 I，NAD^+）激酶的激活，这个激酶将辅酶 I 转换成烟酸酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（$NADP^+$），即辅酶 II（Epel et al. 1981）。因为辅酶 II（而不是辅酶 I）可以作为脂质生物合成的辅酶，这种转换对脂质代谢及卵裂中细胞膜的构建有重要作用。海胆双重氧化酶使氧降低以交联受精膜，这也依赖于还原型辅酶 II（Heinecke and Shapiro 1989；Wong et al. 2004）。最近的研究发现，还原型辅酶 II（NADPH）有助于再生谷胱甘肽和卵硫醇，这两种分子可以清除损害卵和早期胚胎中 DNA 的一些自由基（Mead and Epel 1995）。

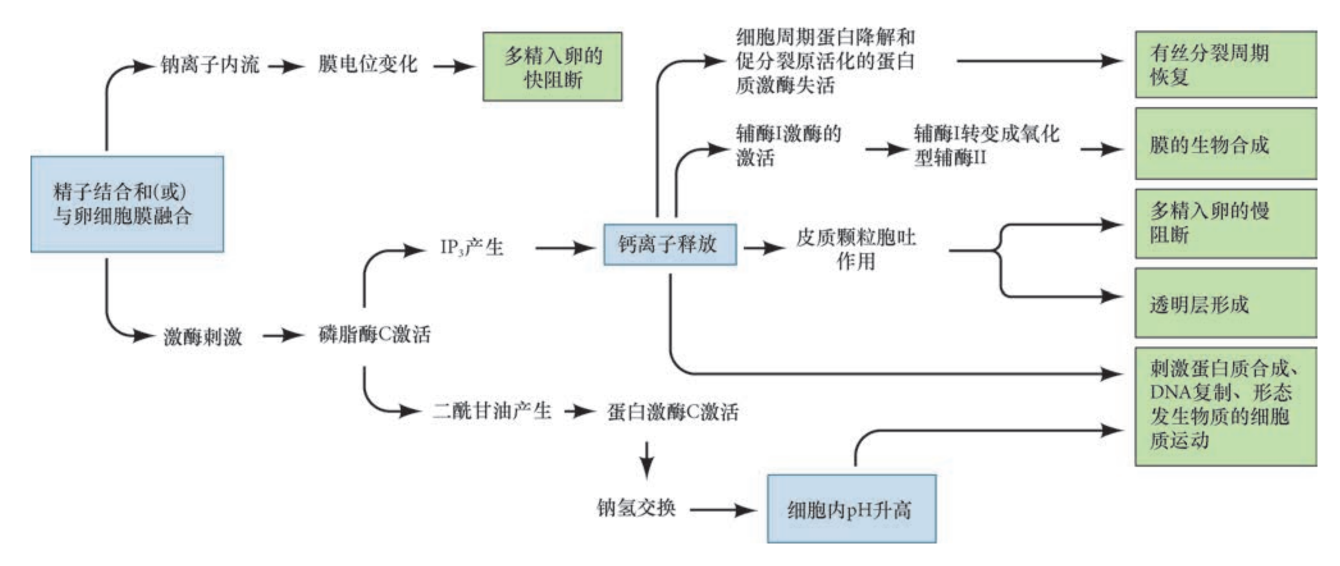


图 7.23　海胆卵激活的假设途径。IP_3：肌醇三磷酸（参考 Epel 1980，以及 L. A. Jaffe 的个人交流）。

发育辅导课　**找到它 / 失去它 / 移动它**　**这是生物学证据的基本模式，可在配子黏附和卵的钙激活的一些发现中观察到。**

网络话题 7.4　**证据的规则**　“找到它 / 失去它 / 移动它”的实验模式适合广泛的科学证据系统，如来自受精研究的这些例子。

晚期应答：蛋白质和 DNA 合成的恢复　受精的晚期应答包括 DNA 和蛋白质合成激增的激活。在海胆，精子与卵的融合导致细胞内 pH 的升高。细胞内 pH 的上升起始于海水中钠离子的第二次内流，使得卵内钠离子和氢离子的比例达到 1 ∶ 1。氢离子的缺失导致卵内 pH 的上升（Shen and Steinhardt 1978；Michael and Walt 1999）。

有研究认为 pH 的升高与钙离子的增多共同促进新的 DNA 和蛋白质合成（Winkler et al. 1980；Whitaker and Steinhardt 1982；Rees et al 1995）。如果用实验的方法将未受精卵的 pH 升高到与受精卵相似的水平，这样就会产生 DNA 合成和核膜破裂，就像卵被受精时的情况一样（Miller and Epel 1999）。钙离子对新的 DNA 合成也非常关键。游离的钙离子波能使促分裂原活化的蛋白质激酶失活，将它从一个磷酸化形式（活性）转变成一个脱磷酸化形式（无活性），从而消除它对 DNA 合成的抑制（Carroll et al. 2000）。

在海胆，蛋白质合成的激增通常在精子入卵后几分钟内发生。这个合成不依赖于新 mRNA 的合成，而是利用卵母细胞质中已经存在的 mRNA。这些 mRNA 编码一些早期发育过程中所需要的蛋白质，如组蛋白、微管蛋白、肌动蛋白，以及一些形态发生因子。使用铵离子人为地升高细胞质中的 pH 可以诱导蛋白质合成的激增（Winkler et al. 1980）。

储存在卵母细胞质中的一些信使的翻译水平全面上升的机制似乎是由于 mRNA 上抑制物的释放。我们在第 2 章讨论了掩蔽蛋白，这是两栖动物未受精卵母细胞中的一个翻译抑制物。在海胆，一种类似的抑制物在多个 mRNA 的 5′ 端结合一个翻译起始因子，即真核起始因子 4E（eIF4E），阻止这些 mRNA 的翻译。但是，在受精时这个抑制物，即 eIF4E 结合蛋白，通过磷酸化被降解，eIF4E 便能与其他翻译因子形成复合物，使海胆卵储存的 mRNA 被翻译成蛋白质（Cormier et al. 2001；Oulhen et al. 2007）。其中一种由于 eIF4E 结合蛋白受到降解而被"释放"的 mRNA 编码细胞周期蛋白 -B（Salaun et al. 2003，2004）。这个蛋白质与细胞周期蛋白依赖激酶 -1（Cdk1）结合后形成启动细胞分裂所必需的**促成熟因子**，或称为**有丝分裂促进因子**（**mitosis-promoting factor，MPF**）。

7.4 海胆中遗传物质的融合

精子与卵细胞膜融合后，精子核及中心粒从线粒体和鞭毛中分离出来。线粒体和鞭毛随后在卵内降解，因此，发育过程的或者成体的生物中有极少（如果有的话）来自精子的线粒体。尽管每个配子为合子贡献了一个单倍体基因组，但线粒体基因组主要是由母本传递。相反地，在几乎所有研究过的动物中都发现（小鼠是一个主要的例外），参与后续分裂的有丝分裂纺锤体所需的中心体来自精子的中心粒（见图 7.14；Sluder et al. 1989，1993）。

海胆卵的受精发生在第二次减数分裂后，所以在精子进入卵细胞质时，已经存在一个单倍体的雌原核。一旦进入卵内，精核在经历去致密以形成单倍体雄原核的过程中发生剧烈的转变。首先，核膜退化，使致密的精子染色质暴露于卵细胞质中（Longo and Kunkle 1978；Poccia and Collas 1997）。卵细胞质中的激酶使精子特异的组蛋白磷酸化后去致密。去致密的组蛋白被来自卵的卵裂期组蛋白替代（Stephens et al.2002；Morin et al. 2012），这种交换使精子染色质去致密，而去致密的 DNA 与核膜附着，DNA 聚合酶在此起始复制（Infante et al. 1973）。

精原核与卵原核如何找到对方？海胆精子进入卵细胞质后，精子核从尾部分离出来，旋转 180°，这使精子的中心粒处于发育中的雄原核和卵原核之间。然后，精子的中心粒作为微管组织中心，延伸自身的微管，并与卵的微管整合形成一个星体。微管在整个卵中延伸并与雌原核接触，这时的两个原核相互迁移。它们之间的融合形成二倍体的合子核（图 7.24）。DNA 合成起始于原核期或合子的核形成之后，并依赖于受精早期释放的钙离子水平（Jaffe et al. 2001）。

此时，二倍体核已经形成，DNA 合成和蛋白质合成已经开始，细胞分裂的抑制物已经被去除。海胆

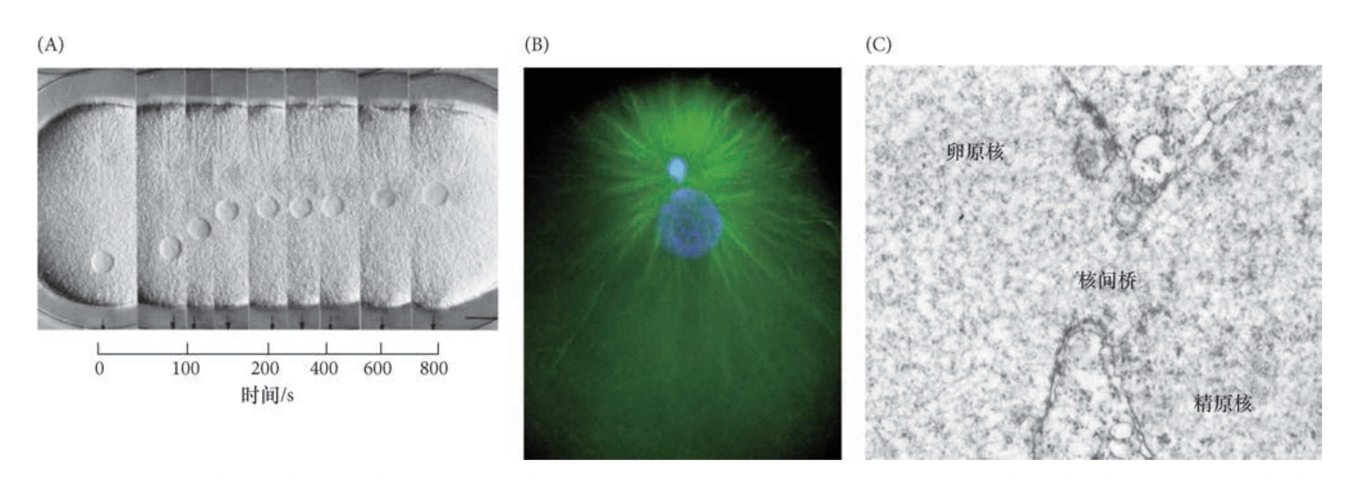


图 7.24 海胆受精过程中的细胞核事件。（A）连续照片显示海胆（*Clypeaster japonicus*）卵原核与精原核相互迁移。精原核被微管星体包围。（B）两个原核在这些微管突起上相互迁移（原核 DNA 被 Hoechst 染成蓝色）。微管（用微管蛋白的荧光抗体染成绿色）从联结在较小的雄原核的中心体辐射到雌原核。（C）海胆的原核融合（A 图来自 Hamaguchi and Hiramoto 1980，由作者提供；B 图来自 Holy and Schatten 1991，由 J. Holy 提供；C 图由 F. J. Longo 提供）。

现在可以开始形成一个多细胞的个体。我们将在第 10 章描述海胆实现多细胞性的一些方式。

> **观察发育 7.4**　两段视频显示精原核和卵原核相互移动与融合的过程。

7.5　哺乳动物的体内受精

很难研究哺乳动物的精子和卵子在它们接触之前发生的相互作用。一个明显的原因是哺乳动物的受精发生在雌性输卵管内。虽然用天然或人工海水可以相对容易地模拟海胆受精的情况，但我们还不知道哺乳动物的精子向卵子运动时所遇到的各种不同环境。

第二个难以研究哺乳动物受精的原因是射入雌性的精子群体很可能是异质的，含有不同成熟阶段的精子。在性交时正常射出的 280×10^6 个人精子中，只有大约 200 个能到达卵子附近（Ralt et al. 1991）。因此，由于只有不到万分之一的精子能接近卵子，很难分析是哪些分子使精子游向卵子并被激活。

第三个难以解释哺乳动物受精细节的原因是最近发现有多种机制（将在本章后面讨论）参与哺乳动物精子的顶体反应，以及与透明带的结合（见 Clark 2011）。

> **观察发育 7.5**　Yasayuki Mio 博士实验室的一段视频展示了人类体外受精和早期发育的一些事件。

7.5.1　配子进入输卵管：转位和获能

雌性生殖道不是精子赛跑的被动管道，而是一个高度特殊的组织，能活跃调节两种配子的输送和成熟。雄配子和雌配子都通过小规模生化作用与大规模物理驱动的结合而到达**壶腹**（**ampulla**），也就是受精发生的输卵管区域。

转位　雌性生殖道必须有利于精子和卵子的接触。不同的机制被用来在正确的时间将这些配子定位在正确的位置。刚从卵巢释放出来的哺乳动物卵母细胞被含有卵丘细胞的基质所包围。卵丘细胞是与正在发育的卵母细胞所附着的卵巢卵泡细胞（见图 7.5）。如果这个基质被实验手段移除或显著改变，输卵管伞将不能“接到”卵母细胞 - 卵丘细胞复合物（见图 12.11），这个复合物也就不能进入输卵管（Talbot et al. 1999）。一旦被“接到”，纤毛摆动和肌肉收缩共同将卵母细胞 - 卵丘细胞复合物输送到输卵管的正确受精位置。

精子必须长途旅行才能到达受精位置。在人类，大约有 3 亿精子射入阴道，但 100 万个精子中只有一个能进入输卵管（Harper 1982；Cerezales et al. 2015）。精子从阴道位移到输卵管涉及多个在不同的时间和位置起作用的过程。

- 精子活力。活力（鞭毛活动）可能对精子通过宫颈黏液进入子宫很重要。有趣的是，在一些雌性滥交的哺乳动物（与几个雄性快速连续交配），来自同一雄性的精子通常会形成“队列”或聚集，鞭毛的联合推进使得精子的运动速度更快（**图 7.25**）。这种策略很可能是因为雄性之间的竞争而进化出来的。在那些没有雌性滥交的物种，精子通常保持单个状态（Fisher and Hoeckstra 2010；Foster and Pizzari 2010；Fisher et al. 2014）。
- 子宫肌收缩。在小鼠、地鼠、豚鼠、奶牛和人类，精子被射入阴道 30 min 内就会出现在输卵管。这个时间“太短，即便是最强壮的精子，仅用它们自身的鞭毛动力也不可能到达”（Storey 1995）。相反，精子似乎被子宫的肌肉活动输送到输卵管。
- 精子趋流性。精子也从输卵管到子宫的液体流接收长距离方向性信号。精子具有正趋流性，即逆流移动，它们使用精子钙通道（像海胆精子那样）来感受钙内流和监测液体流动的方向（Miki and Clapham 2013）。在小鼠和人类中已经观察到这种精子趋流性。

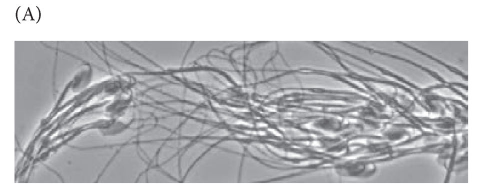
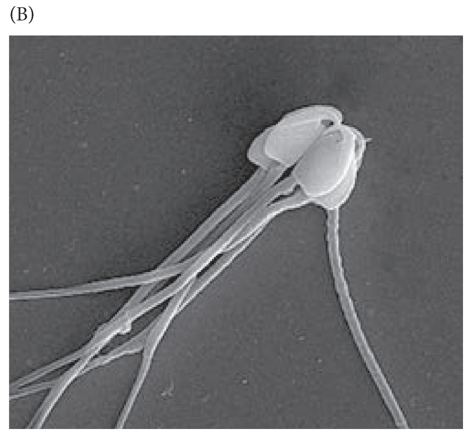



图 7.25 精子聚集见于一个雌性与多个雄性在短时间内交配的物种。(A) 木鼠 (*Apodemus sylvaticus*) 的“精子队列”。精子由它们的顶体帽连接在一起。(B) 田鼠 (*Peromyscus maniculatus*) 精子头部的特写，显示钩挂钩的附着 (A 图来自 Foster and Pizzari 2010，由 T. Pizzari 和 H. Moore 提供；B 图来自 Fischer et al. 2014，由 H. S. Fischer 和 H. Hoekstra 提供)。

获能 在经过阴道到输卵管壶腹区域的长途旅行中，精子成熟，具备了使卵受精的能力。与蛙或海胆不同，新射的哺乳动物精子未成熟，不能使卵受精；它们不能进行顶体反应或感知将它们最终引导至卵的信息。为了获得这样的能力，精子必须经历一系列连续的生理变化，这称为**获能** (**capacitation**)。这些变化只有在雌性生殖道中停留一段时间后才能完成 (Chang 1951；Austin 1952)。没有获能的精子被“拦截”在卵丘基质中，不能接触卵 (Austin 1960；Corselli and Talbot 1987)。

发育辅导课 **获能** 对于新射的哺乳动物精子不能使卵受精的认识是成功建立体外受精技术的一个重要突破。

与人们普遍的看法相反，捷足者未必先登。Wilcox 及其同事的一项研究发现 (1995)，人类几乎所有的妊娠都来自排卵后 6 天内的交媾。这意味着精子最长可能需要 6 天才到达输卵管。尽管有一些精子在交媾后 0.5 h 内就能到达输卵管的壶腹，速度快的精子可能只有非常小的机会使卵受精，因为它们还没有获能。Eisenbach (1995) 提出一个假设：获能是一个短暂的事件，精子只具有一个相对短暂的能力窗口，能使卵受精。当精子到达壶腹时，它们便获得了这个能力，但如果在这里停留太久，它们就会失去这种能力。

获能的分子过程为精子的顶体反应做好准备，并使精子变得超活化 (图 7.26)。虽然这些过程的细节还有待研究 (众所周知地难以研究)，但有两组分子变化被认为是重要的。

1. 脂类变化。雌性生殖道中，精子细胞膜的胆固醇被白蛋白去除而受到改变 (Cross1998)。精子细胞膜上的胆固醇外流被认为改变了它的“脂筏”位置，这些区域通常含有受体蛋白，可以结合透明带并参与顶体反应 (Bou Khalil et al. 2006；Gadella et al. 2008)。脂筏最初遍布在整个精子细胞膜，在胆固醇外流后就聚集在精子头部的前端。顶体膜外侧发生变化，与精子细胞膜接触，从而为顶体反应做好准备 (Tulsiani and Abou-Haila 2004)。
2. 蛋白质变化。获能时精子丢失表面的特殊蛋白质或糖类 (Lopez et al. 1985；Wilson and Oliphant 1987)。这些分子可能阻断精子蛋白与透明带结合的识别位点。有研究表明，这些位点的暴露可能是胆固醇降低的作用之一 (Benoff 1993)。当钾离子流出时，精子细胞膜的负电位更加降低，这个变化可能打开钙通道，使钙离子进入精子。钙离子和碳酸氢盐离子对于刺激环腺苷酸的生成和促进顶体反应的膜融合事件十分关键 (Visconti et al. 1995；Arnoult et al. 1999)。碳酸氢盐离子 (可能还有其他离子) 的大量内流使精子碱化，升高了精子的 pH。这对于随后钙通道的激活至关重要 (Navarro et al. 2007)。环腺苷酸生成的结果是蛋白质发生磷酸化 (Galantino-Homer et al. 1997；Arcelay et al. 2008)。一些蛋白质被磷酸化之后位移到精子头部的表面。其中一种蛋白质是 Izumo，它对精卵融合有关键的作用 (见图 7.30；Baker et al. 2010)。

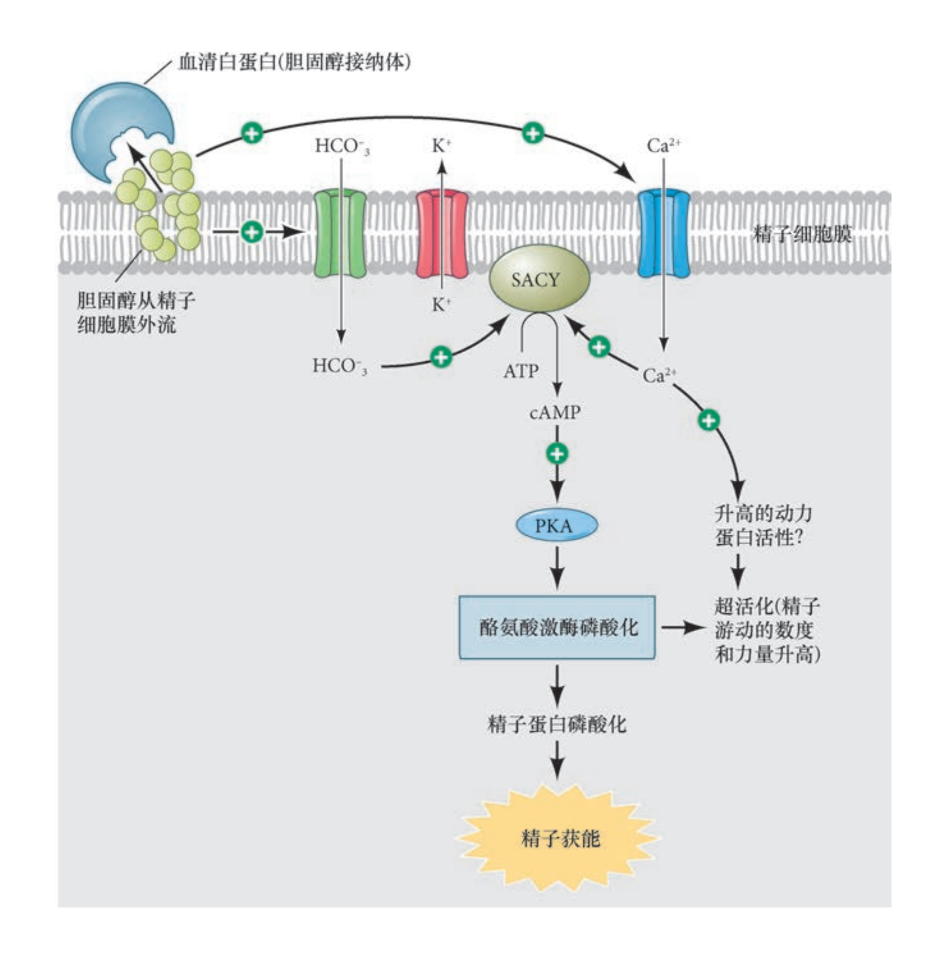
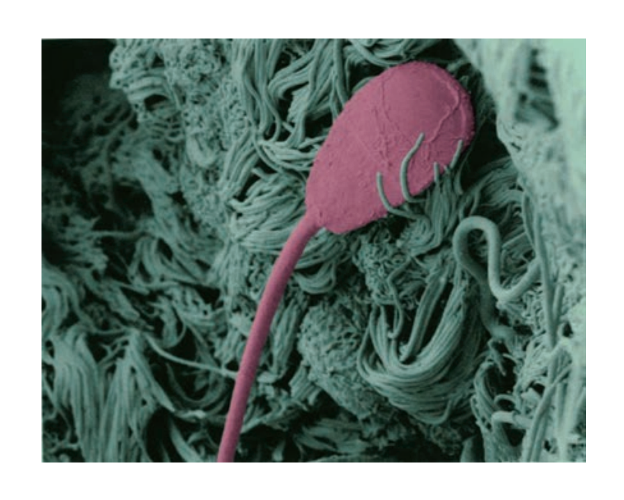


图 7.26　哺乳动物精子获能的假设模型。这个途径受胆固醇从精子细胞膜上的去除所调节，胆固醇的去除使碳酸氢盐离子和钙离子流入细胞内。这些离子激活腺苷酸激酶（可溶性腺苷酸环化酶），从而提高环腺苷酸的浓度。高水平的环腺苷酸进而激活蛋白激酶 A。活化的蛋白激酶 A 使多种酪氨酸激酶磷酸化，进而使精子蛋白磷酸化，导致精子获能。细胞内钙离子的升高也能使这些蛋白磷酸化，并且参与精子的超活化。HCO_3^-：碳酸氢盐离子；SACY：可溶性腺苷酸环化酶；cAMP：环腺苷酸；PKA：蛋白激酶 A（参考 Visconti et al. 2011）。

精子转位与获能之间可能存在重要联系。Smith（1998）和 Suarez（1998）证明，在进入输卵管的壶腹之前，没有获能的精子与位于它们前部狭窄通道（输卵管峡部）的输卵管细胞膜活跃结合（图 7.27；也见图 12.11）。这种结合是暂时的，在精子获能后解除。而且，这种结合能显著延长精子的寿命。在获能过程中对精子进入壶腹的这种限制以及精子寿命的延长可能有重要的影响。这种结合作用通过阻止很多精子同时接触卵能够行使阻断多精入卵的功能（Töpfer-Petersen et al. 2002；Gwathmey et al. 2003）。在牛中切除输卵管峡能引起高比例的多精入卵。此外，减缓精子获能数率和延长精子的活跃寿命可使精子在壶腹遇到卵的概率最大化。



拓展性问题

有时卵子和精子不能相遇，受孕不成功。导致人类不孕的主要原因是什么？现今用什么方法来解决这些问题？

图 7.27　扫描电子显微照片（人工着色）显示牛精子在进入壶腹前附着在母牛输卵管的上皮细胞膜上（来自 Lefebvre et al. 1995，由 S. Suarez 提供）。

7.5.2　卵母细胞附近：超活化、趋温性和趋化性

精子在获能后期变得超活化，它们游动的速度更快、产生更大的动力。超活化似乎是因为精子尾部

的精子特异性钙通道的开放所致（图 7.26；Ren et al. 2001；Quill et al. 2003）。鞭毛的对称摆动转变为弯曲度较大的快速异步扭动。摆动的力量和精子头部的运动方向可以使精子从输卵管上皮细胞的结合中释放出来。事实上，只有高度活化的精子可以脱离这种结合，然后继续游向卵（Suarez 2008a，b）。超活化能使精子应答不同的液体流。未获能的精子只能在平面上移动，使精子头部附着在输卵管上皮细胞上的时间更长。获能的精子绕输卵管的长轴旋转，这可能增强精子脱离上皮细胞的能力（Miki and Clapham 2013）。超活化与精子细胞膜外的透明质酸酶共同使精子能够从卵丘细胞外的细胞基质上消化出一个通路（Lin et al. 1994；Kimura et al. 2009）。

一个古老的笑话这样说：一个男人每次射出这么多精子的原因是因为没有一个雄配子愿意问路。那么，是什么提供了精子的方向？热量是一个信息：输卵管峡与温度稍高的壶腹区域之间有一个 2℃的温差（Bahat et al. 2003，2006）。获能的哺乳动物精子可以感知每毫米距离内 0.014℃的温差，并偏好向温度高的位置迁移（Bahat et al. 2012）。这种感知温差并偏向从温度较低位置游到温度较高位置的能力，即**趋温性**（**thermotaxis**），只存在于获能的精子。

大多数进入壶腹区域的精子已经发生顶体反应（La Spina et al. 2016；Muro et al. 2016）。现在，第二种感知机制——**趋化性**（**chemotaxis**），可能开始发挥作用。在精子迁移的最后阶段，卵母细胞和卵丘细胞可能分泌一些分子，将获能精子（而且只是获能精子）吸引至卵（Ralt et al. 1991；Cohen-Dayag et al. 1995；Eisenbach and Tur-Kaspa 1999；Wang et al. 2001）。这些趋化性化合物的性质目前还在研究中，其中一种似乎是由卵丘细胞产生的**孕酮**（**progesterone**）。Guidobaldi 及其同事（2008）证明，兔的精子可以结合卵母细胞周围卵丘细胞分泌的孕酮并且使用这个激素作为导向。在人类，孕酮能结合一个在精子尾部细胞膜上激活钙离子通道的受体，使精子超活化（Lishko et al. 2011；Strünker et al. 2011）。小鼠卵丘细胞也分泌一种物质，富含半胱氨酸分泌蛋白 -1（CRISP1），能吸引精子，并通过精子的钙离子通道激活精子（Ernesto et al. 2015）。人的卵丘似乎也产生一种（或几种）吸引精子的物质，这个（些）物质形成一个梯度，使精子通过卵丘向卵移动（Sun et al. 2005；Williams et al. 2015）。这些趋化物是否是同一类物质还有待探讨。这种激活只有在精子细胞内的 pH 升高之后才能发生，这也有助于解释为什么需要获能才能使精子接触卵并使其受精（Navarro et al. 2007）。

因此，类似海胆的精子活化肽，孕酮好像既为精子提供方向，又能激活精子的运动力。而且，与一些无脊椎动物的卵一样，人的卵只有在能被受精时才会分泌趋化因子，而精子只有在具有受精能力时才会被这种趋化物吸引。

总之，三种钙介导的感知机制使得哺乳动物的精子能够接近卵子：趋流性（长距离）、趋温性（中等范围）、在距离卵的毫米范围内发挥作用的趋化性。

7.5.3 位于透明带的顶体反应和识别

哺乳动物的精子与卵母细胞结合前，必须首先结合并穿透卵的透明带。哺乳动物透明带的作用类似于无脊椎动物的卵黄被，不过，透明带是比卵黄被更厚和更致密的结构。小鼠的透明带有三种主要的糖蛋白，即**透明带蛋白 -1、2、3**（**zona protein 1，2，3，或 ZP1，ZP2，ZP3**），以及结合透明带整体结构的辅助蛋白。人的透明带有四种主要的糖蛋白，即 ZP1、ZP2、ZP3、ZP4。

精子与透明带的结合具有相对的但不是绝对的物种特异性，一个物种可以使用多种机制来实现这种结合。来自兔和地鼠的早期证据（Huang et al. 1981；Yanagimachi and Phillips 1984）表明，接触卵的精子已经发生顶体反应。最近，Jin 及其同事（2011）证明，小鼠精子的顶体反应发生在结合透明带之前（图 7.28A）。他们发现，“成功”的精子，也就是真正能使卵受精的精子，在刚遇到卵丘时就已经发生顶体反应。在透明带发生顶体反应的精子都是一些“失败”的精子。

因此，大多数精子在卵丘内或在其周围发生顶体反应。而且，它们可能通过透明带上的 ZP2 与卵结合。在一个功能获得实验中，ZP2 被证明是人的精卵结合的关键蛋白。人的精子不能结合小鼠卵的透明带，所

以 Baibakov 及其同事（2012）将人的各种透明带蛋白分别添加到小鼠卵的透明带。只有那些含有人的 ZP2 蛋白的小鼠卵才能结合人的精子（图 7.28B）。利用 ZP2 的突变形式，Avella 及其同事（2014）证明，小鼠 ZP2 蛋白中的一个特定区域（第 51 ～ 149 位氨基酸之间）结合精子。这个区域也见于人的 ZP2，并且行使精子与透明带的结合功能。ZP3 是与精子结合的另一个候选分子，然而 Gahlay 及其同事（2010）证明，携带 ZP3 突变的小鼠卵仍能被受精。

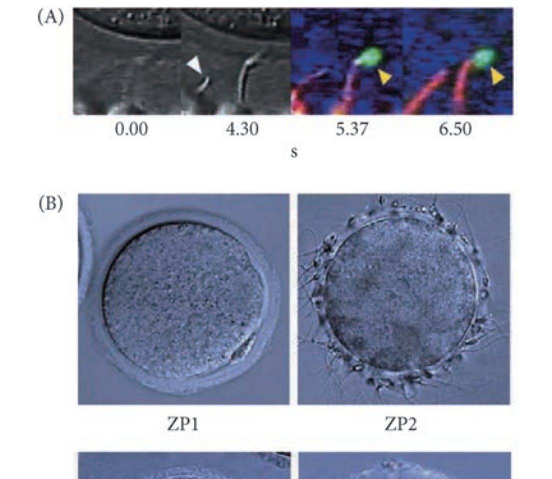
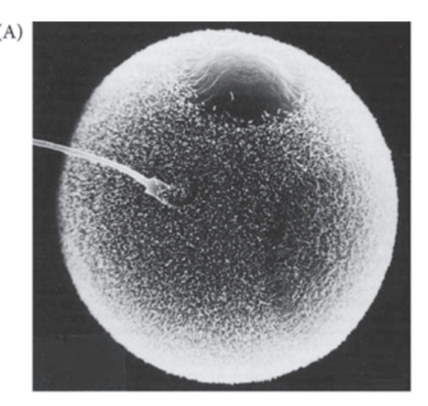


图 7.28　完成顶体反应的小鼠精子结合透明带并成功使卵受精。（A）小鼠精子的顶体用绿色荧光蛋白予以标记，使完整的顶体有绿色荧光；精子的尾部用红色荧光标记。当标记的精子与卵和卵丘相互作用时，视频显示受精的精子（4.30 s 静帧中的箭头）在 6.50 s 到达透明带表面时没有绿色荧光，表明它之前已经发生过顶体反应。相邻的一个精子（黄色箭头）具有绿色荧光，说明它的顶体保持完整。这种顶体完整的精子与卵透明带维持结合，不发生顶体反应，也不向卵细胞膜接近。（B）功能获得实验显示人的精子与 ZP2 结合。在人的四种透明带蛋白中，只有 ZP4 不存在于小鼠的透明带。表达三种小鼠透明带蛋白和四种人透明带蛋白之一的转基因小鼠卵母细胞已经构建出来。将人的精子加入到小鼠卵母细胞时，人的精子只结合表达人的 ZP2 的转基因卵母细胞，而不结合表达人的 ZP1、ZP3 或 ZP4 的卵母细胞。ZP1：透明带蛋白 -1；ZP2：透明带蛋白 -2；ZP3：透明带蛋白 -3；ZP4：透明带蛋白 -4（A 图来自 Jin et al. 2011，由 N. Hirohashi 提供；B 图来自 Baibakov et al. 2012）。

在小鼠，也有证据表明顶体完整的精子能结合 ZP3，并且 ZP3 能引起顶体反应（Bleil and Wassarman 1980，1983）。在人类，有证据表明透明带蛋白也能诱导这种反应，可能是所有的透明带蛋白协同作用（Gupta 2015）。事实上，有几种方法可以启动精子发生顶体反应、结合并穿过透明带。这些机制可能同时起作用，或者一种机制适用于顶体完整的精子，另一种机制适用于已经发生顶体反应的精子。鉴于不同物种的透明带生化组成上的差异，在一个物种中占主导作用的机制不一定在另一个物种起主导作用。结合透明带蛋白的精子受体还没有被鉴别出来。它有可能是含有几种蛋白质的复合物，既结合透明带糖蛋白的蛋白质部分，也结合多糖部分（Chiu et al. 2014）。

7.5.4　配子融合与多精入卵的阻断

在哺乳动物，不是精子头部的顶端接触卵（不像海胆精子垂直入卵那样），而是精子头部的侧面（图 7.29）。顶体反应除了加速排出顶体酶外，还使顶体膜内侧向外暴露。顶体膜内侧与精子细胞膜的连接称为**赤道区**（**equatorial region**），这是精卵细胞膜开始融合的位置（图 7.30A）。就像海胆配子融合一样，精子结合在卵中肌动蛋白聚合及



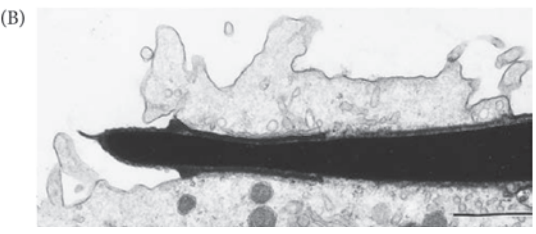


图 7.29　精子进入金黄地鼠的卵。（A）精子与卵融合的扫描电子显微照片。“秃”点（没有微绒毛）是极体芽出的位置。精子不在那里与卵结合。（B）精子平行于卵细胞膜进行融合的透射电镜图（照片来自 Yanagimachi and Noda 1970；Yanagimachi 1994，由 R. Yanagimachi 提供）。

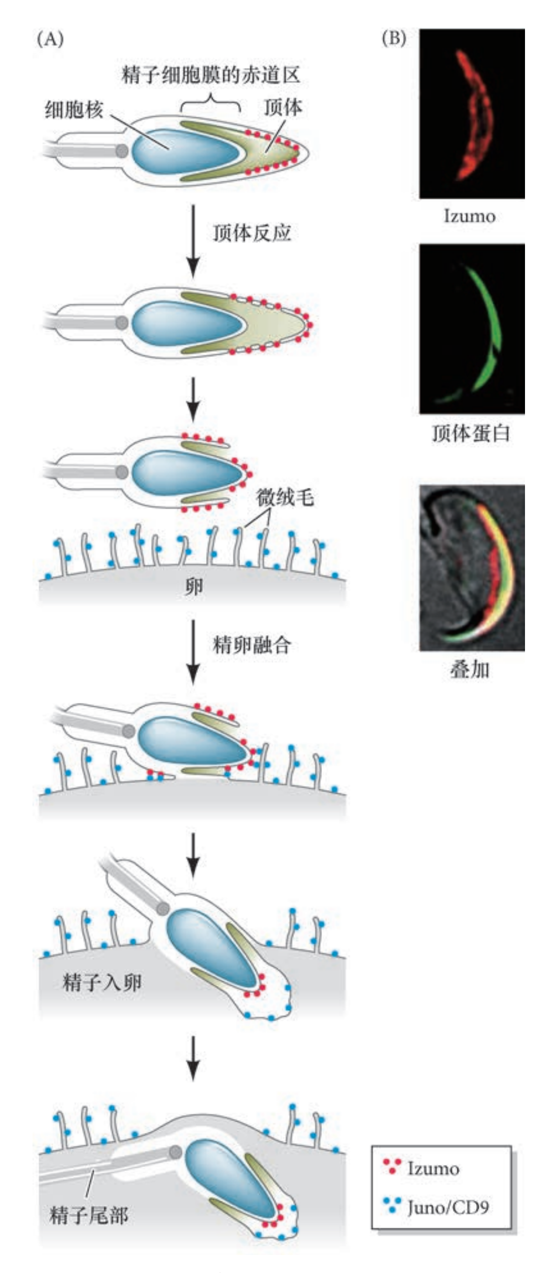


图 7.30 小鼠受精时的 Izumo 蛋白及膜融合。(A) Izumo 定位于顶体膜的内部和外部。Izumo 蛋白被染成红色，顶体蛋白被染成绿色。(B) 精卵细胞膜融合示意图：在顶体反应过程中，定位于顶体的 Izumo 被转运到精子细胞膜。在这个位置它结合卵微绒毛上的 Juno 和 CD9 蛋白复合物，启动膜融合和精子入卵（参考 Satouh et al. 2012；照片由 M. Okabe 提供）。

向精子延伸微绒毛的区域（Yanagimachi and Noda 1970）。

哺乳动物的配子融合机制仍有争议（Lefevre et al. 2010；Chalbi et al. 2014）。对于融合过程中的精子，Inoue 及其同事（2005）证明了一种免疫球蛋白样蛋白的作用，这个蛋白质根据日本的一个姻缘圣祠被命名为 Izumo（出云）。它最初表达在顶体颗粒的膜上（图 7.30B）。但是，在顶体反应发生之后，Izumo 沿着精子表面重新分布，主要定位在精卵结合的赤道部分（见图 7.30A；Satouh et al. 2012）。携带 *Izumo* 基因功能缺失突变的小鼠精子可以结合并穿过透明带，但不能与卵细胞膜融合。人的精子也含有 Izumo 蛋白，阻断 Izumo 的抗体也能阻止人的精卵融合。还有其他参与精子融合的蛋白质，也可能有多种精卵结合的调节系统，每种系统对于正确的配子结合和融合可能都是必要的，但不是充分的。

Izumo 结合一个卵母细胞蛋白，称为 Juno（以掌管婚姻和生育力的罗马女神的名字而命名），缺失 Juno 的卵不能与发生顶体反应的精子结合或融合（Bianchi et al. 2014）。Izumo 与 Juno 的相互作用将卵细胞膜蛋白 CD9 招募到精卵黏附区域（Chalbi et al. 2014）。CD9 蛋白似乎参与精卵融合，*CD9* 基因被敲除的雌性小鼠由于精卵融合缺陷而不育（Kaji et al. 2002；Runge et al. 2006）。目前尚不清楚这些蛋白质如何促进膜融合，但已知 CD9 蛋白对于肌细胞（肌细胞前体）融合形成横纹肌非常重要（Tachibana and Hemler 1999）。

哺乳动物与海胆一样，也面临多精入卵的问题。在哺乳动物中还没有发现多精入卵的电位快阻断机制；鉴于接触卵的精子数量有限，也可能不需要这种机制（Gardner and Evans 2006）。但是，当皮质颗粒释放的酶改变透明带上的精子受体蛋白，使透明带不再与精子结合时，就会出现多精入卵的慢阻断（Bleil and Wassarman 1980）。ZP2 被金属蛋白酶 ovastacin 切割而失去结合精子的能力（图 7.31；Moller and Wassarman 1989）。Ovastacin 蛋白酶存在于未受精卵的皮质颗粒中，并在皮质颗粒融合过程中释放。的确，多精入卵在携带突变形式的 ZP2（不能被 ovastacin 蛋白酶切割的）的小鼠卵中更为常见（Gahlay et al. 2010；Burkart et al. 2012）。

另一个多精入卵的慢阻断涉及 Juno 蛋白（Bianchi and Wright 2014）。在精卵膜融合时，Juno 从细胞膜上释放下来。因此，精子的对接位点被清除。而且，可溶性 Juno 蛋白能在透明带和卵母细胞之间的卵黄膜周隙中结合精子，阻止精子与可能存在于卵母细胞膜上的 Juno 蛋白结合。

7.5.5 遗传物质的融合

与海胆一样，哺乳动物的单个精子最终携带单倍体原核中的遗传物质入卵。然而，在哺乳动物中，原核的迁移过程大约需要 12 h，而海胆则不到 1 h。精原核的 DNA 被一些鱼精蛋白结合，这些碱性蛋白通过二硫键紧密压缩。卵细胞质中的谷胱甘肽能还原这些二硫键，使得精子的染色质展开（Calvin and

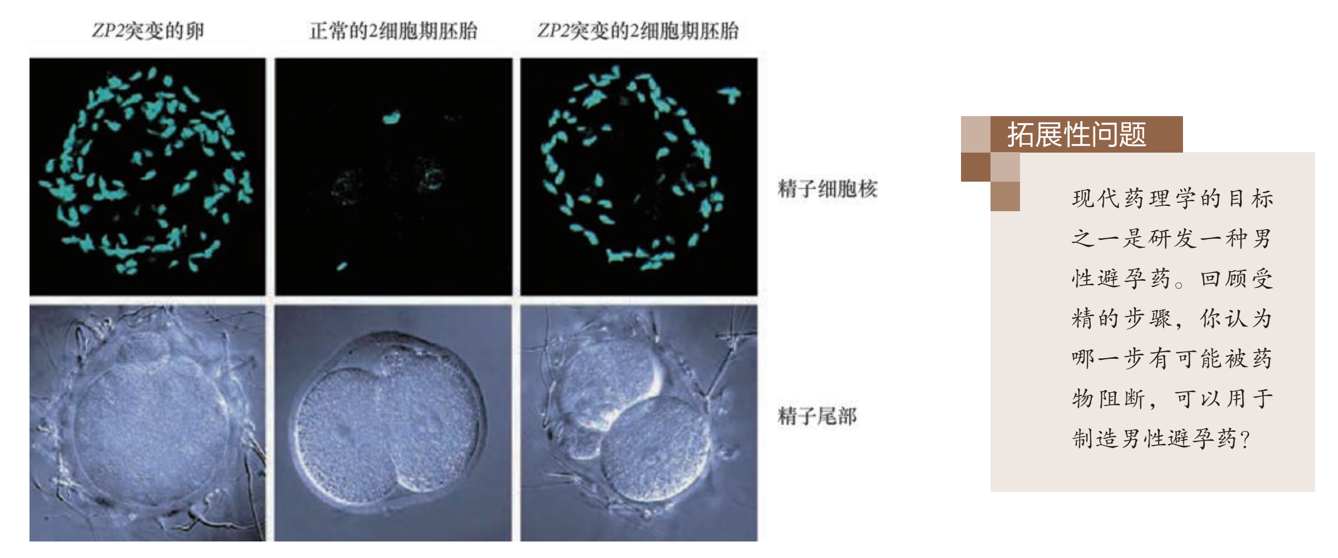


图 7.31　哺乳动物 ZP2 的切割对阻断多精入卵是必需的。卵和胚胎用荧光显微镜（观察精子核，上排）和明场显微镜（相差观察精子尾部，下排）成像。精子与表达不被切割的突变 ZP2 的卵细胞正常结合。表达正常（可被切割）ZP2 的卵细胞在 2 细胞期失去精子，而表达突变（不可切割）ZP2 的卵细胞则保留精子（来自 Gahlay et al.2010，照片由 J. Dean 提供）。

拓展性问题

现代药理学的目标之一是研发一种男性避孕药。回顾受精的步骤，你认为哪一步有可能被药物阻断，可以用于制造男性避孕药？

Bedford 1971；Kvist et al. 1980；Sutovsky and Schatten 1997）。

哺乳动物的精子进入卵母细胞时，卵母细胞核正停滞在第二次减数分裂中期（**图 7.32A，B**；也见图 7.3）。如在海胆中一样，精子入卵时产生的钙波动使促分裂原活化的蛋白质激酶失活并使 DNA 合成。与海胆卵已经处于单倍体的状态不同，哺乳动物卵母细胞的染色体仍处于减数分裂中期。钙离子水平的波动通过激活另一个激酶来降解细胞周期蛋白（使细胞周期继续进行）和分裂酶抑制蛋白（将减数分裂中期的染色体维持在一起的蛋白质），最终形成单倍体的雌原核（Watanabe et al. 1991；Johnson et al. 1998）。

雄原核和雌原核各自合成 DNA。来自雄原核的中心体产生一些星体（主要利用储存在卵母细胞中的微管蛋白）。微管连接两个原核并使它们向彼此迁移。会合后，两个核膜破裂。然而，哺乳动物不像海胆那样产生一个共同的合子细胞核，而是染色质致密形成染色体，这些染色体将自身定向于一个共同的有丝分裂纺锤体（**图 7.32C，D**）。因此，在哺乳动物，一个真正的二倍体核并不产生自受精的合子，而是形成于 2 细胞期。

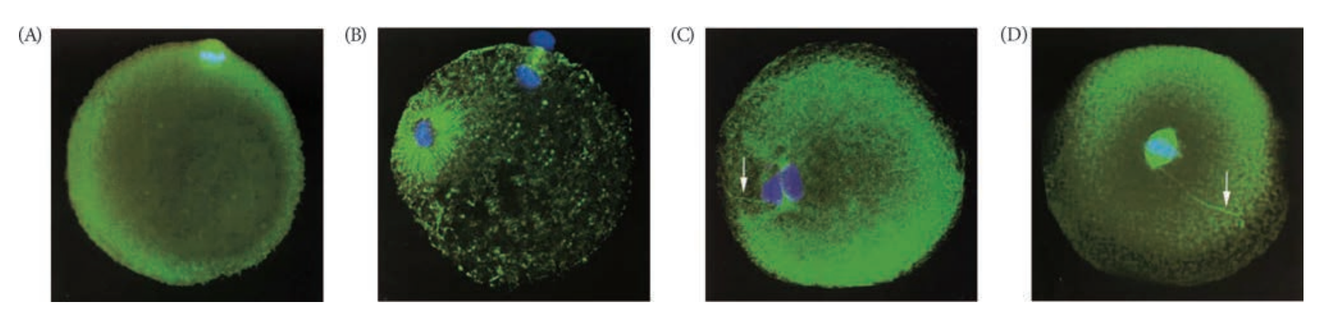


图 7.32　人受精过程中的原核运动。微管被染成绿色，DNA 被染成蓝色。箭指向精子尾部。(A) 成熟的未受精卵母细胞完成第一次减数分裂，排出一个极体。(B) 精子进入卵母细胞（左侧）时，周围的微管致密，卵母细胞完成第二次减数分裂。(C) 受精后 15 h，两个原核聚集在一起，中心体分裂形成一个双极微管阵列。精子的尾部仍然可见（箭所示）。(D) 在前中期，精子和卵的染色体互相混合于中期赤道板，一个有丝分裂纺锤体启动第一次有丝分裂。精子的尾部仍然可见（来自 Simerly et al. 1995，由 G. Schatten 提供）。

精子不仅将它的核带入卵内，也带入线粒体、中心粒和极少量的细胞质。精子的线粒体及线粒体 DNA 在卵细胞质中被降解，因此新个体的所有线粒体都来自它的母体。卵细胞和胚胎通过稀释与活跃靶向破坏来清除父本线粒体（Cummins et al. 1998；Shitara et al. 1998；Schwartz and Vissing 2002）。然而，大

多数哺乳动物精子的中心粒不仅保存下来，而且负责组装新的有丝分裂纺锤体。此外，最近发现精子细胞质含有激活卵代谢的一些酶，以及可能改变基因表达的一些 RNA 片段（Sharma et al. 2016）。

网络话题 7.5 哺乳动物原核的非等价性 与孟德尔的预期相反，有些基因只有当它们来自精子的时候才有活性，而另一些只有来自卵子的时候才有活性。这些基因被称为“印记”基因。

7.5.6 哺乳动物卵的激活

与已经研究过的其他动物一样，细胞质钙离子的瞬时升高对于哺乳动物卵的激活也是必要的。精子诱发的一系列钙波能持续数小时，直到卵的激活（例如，减数分裂的恢复、皮质颗粒的胞吐作用、母体 mRNA 抑制的解除）和雌雄原核的形成。与海胆一样，受精通过磷脂酶 C 产生的肌醇三磷酸启动细胞内的钙离子释放（Swann et al. 2006；Igarashi et al. 2007）。

但是，参与卵激活和原核形成的哺乳动物磷脂酶 C 可能来自精子而不是卵子。一系列对精子来源的磷脂酶 C 的首次观察来自细胞质内精子注射（ICSI）的研究，这是一种不孕症的治疗方法。在这种情况下，精子被直接注射到卵细胞质，不与卵细胞膜发生任何相互作用。这种治疗竟然是有效的，这让许多生物学家感到惊讶（他们认为精子结合卵的受体对卵的激活至关重要）。人的卵被激活并形成原核。将小鼠的精子注射到小鼠的卵中也能诱导类似受精的钙振荡，并促使完全发育（Kimura and Yanagimachi 1995）。

精子头部似乎储存了一种钙离子释放的激活物（见图 7.20A）。这种激活物被证明是一种可溶性的精子磷脂酶 C，即**磷脂酶 Cζ**（**PLCζ**），它通过配子融合被传入卵。在小鼠卵细胞中表达磷脂酶 Cζ 的 mRNA 能产生钙波动，去除小鼠精子中的磷脂酶 Cζ（通过抗体或 RNA 干扰）能使精子失去钙离子诱导活性（Saunders et al. 2002；Yoda et al.2004；Knott et al. 2005）。细胞质内精子注射后卵激活的失败主要是因为精子几乎没有功能性的磷脂酶 Cζ。事实上，正常的人精子被注射到小鼠卵中能激活钙离子波动，但缺少磷脂酶 Cζ 的精子不能激活钙离子波动（Yoon et al. 2008）。

海胆卵通常是被从精子入卵点传出的一个单一钙离子波激活，但在哺乳动物中有众多的钙离子波穿过卵（Miyazaki et al. 1992；Ajduk et al. 2008；Ducibella and Fissore 2008）。钙离子的波动程度（振幅、持续时间和数量）似乎能调节哺乳动物卵活化的时间（Ducibella et al. 2002；Ozil et al. 2005；Toth et al. 2006）。这样，皮质颗粒的胞吐作用只发生在减数分裂之前，而母体 mRNA 翻译则发生在更早之前。

在哺乳动物，肌醇三磷酸诱导释放的钙离子能结合一系列蛋白质，包括钙调蛋白活化的蛋白激酶（对清除 mRNA 翻译抑制物很重要）、促分裂原活化的蛋白质激酶（使减数分裂恢复）、突触结合蛋白（帮助启动皮质颗粒融合）。未利用的钙离子被泵回内质网，额外的钙离子可从细胞外获得。从细胞外补充钙离子似乎是卵完成减数分裂所必需的。如果钙离子内流被阻断，第二极体就不会形成；这样就会形成两个不能存活的（三倍体）卵原核（Maio et al. 2012；Wakai et al. 2013）。

发育辅导课 精子的传说 人们关于受精的故事经常与生物学的实际数据不一致。

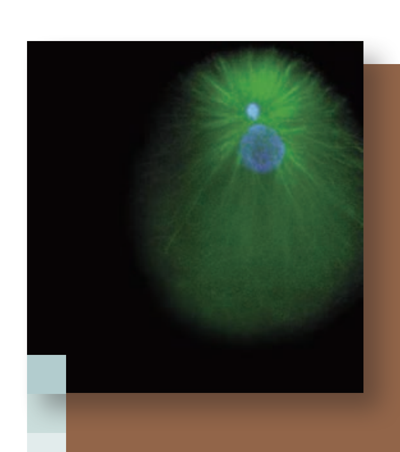
网络话题 7.6 受精研究的社会评论 我们对受精的展望能为我们及科学提供很多信息。

结束语

受精不是一个时刻或一个事件，而是一些事件受到精心设计和协调的一个过程，这包括配子的接触与融合、细胞核融合和发育激活。在这个过程中，两个都处于死亡边缘的细胞相结合以创造出一个将会具有多种细胞类型和器官的新个体。这只是代表动物发育特征的一系列细胞与细胞相互作用的开始。

下一步的研究

受精是一个仍有一些重要问题需要解决的领域。其中最重要的问题包括使配子“具有受精能力”的一些生理变化。我们对精子超活化及感知卵的一些机制也刚开始有所了解；对精子获能的机制也是如此。哺乳动物卵母细胞如何恢复减数分裂的生理机制仍然未知。极体是如何在卵母细胞保留大部分细胞质的方式下形成的？配子识别蛋白如何与细胞融合蛋白相互作用而使精子入卵？甚至精子激活内部钙离子通道的方式也是仍未解决的问题。在 15 ～ 44 岁的美国男女中有大约 6% 的人不育，这就使得回答这些问题变得非常重要。





开篇图的思考

当 Oscar Hertwig（1877）在海胆中发现受精时，他高兴地称之为“卵中的太阳”。这是受精成功的标志。这个绚丽的图实际上是精子中心体产生的微管阵列。这组微管接触并找到雌原核，两个原核在这些微管轨道上互相迁移。图中的原核 DNA 被染成蓝色，雌原核比来自精子的雄原核要大得多。微管被染成绿色（照片由 J. Holy 和 G. Schatten 提供）。

7 要点总结

受精

1. 受精完成了两个独立的活动：两性结合（来自双亲的基因组合）和生殖（一个新生物体的产生）。
2. 受精事件通常包括：①精子与卵子之间的接触和识别；②精子入卵的调节；③两个配子遗传物质的融合；④卵细胞代谢的激活以起始发育。
3. 精子头部由一个单倍体核和一个顶体组成。顶体来自高尔基体，含有消化卵细胞外被所需的酶。精子中段含有线粒体和产生鞭毛微管的中心粒。鞭毛运动的能量来自线粒体的 ATP，以及鞭毛中动力蛋白的 ATP 酶。
4. 雌配子可以是一个卵（有一个单倍体核，如海胆）或一个卵母细胞（发育的早期阶段，如哺乳动物）。卵（或卵母细胞）具有一个储存核糖体和营养性蛋白的大体积细胞质。卵中也储存一些将被作为形态发生因子的 mRNA 和蛋白质。许多卵还含有在特定环境中生存所需的保护因素。
5. 有一个细胞外层环围卵细胞膜，通常用于精子识别。在大多数动物，这个细胞外层是卵黄被。在哺乳动物，它是更厚的透明带。皮质颗粒位于卵细胞膜之下。
6. 卵子和精子既不是“主动的”也不是“被动的”伙伴；精子被卵子激活，卵子被精子激活。这两种激活都涉及钙离子及膜融合。
7. 在许多生物体中，卵子分泌的扩散性分子吸引并激活精子。
8. 卵子分泌的物种特异性趋化分子能吸引使其受精的精子。在海胆，呼吸活化肽和精子活化肽这些趋化肽已经被证明能提高精子的活力并提供正确物种卵的方向。
9. 顶体反应通过胞吐作用释放一些酶。这些蛋白水解酶消化卵细胞的保护层，使精子接触并与卵

细胞膜融合。在海胆，精子的这种反应由卵胶膜上的化合物所引发。球状肌动蛋白聚合以延伸顶体突起。顶体突起上的结合蛋白被海胆卵细胞表面的蛋白质复合物识别。

10. 精子和卵子的融合可能是由一些蛋白质分子介导，这些蛋白质中的疏水基团能合并精子和卵的细胞膜。在海胆，结合蛋白可能介导配子识别和融合。
11. 两个或两个以上的精子受精导致多精入卵。这通常是致死的，因为它会引起卵裂球含有不同数目和类型的染色体。
12. 许多物种具有两种阻断多精入卵的方式。快阻断是立刻的，它引起卵细胞膜静息电位的上升，精子不能再与卵细胞融合。在海胆，这受钠离子内流所介导。慢阻断，或皮质颗粒反应，是物理性的，受钙离子介导。一个钙离子波从精子入卵点传播，引起皮质颗粒与卵细胞膜融合。颗粒的释放物使卵黄被隆起并使受精膜变硬。
13. 精卵融合引起卵中关键代谢事件的激活。这些反应包括重新启动细胞周期和随后的有丝分裂，以及恢复 DNA 和蛋白质的合成。
14. 在所有已经研究的物种中，卵细胞碱化所产生的游离钙离子激活卵细胞代谢、蛋白质合成、DNA 合成。肌醇三磷酸释放内质网储存的钙离子，二酰甘油使卵细胞的 pH 升高。
15. 肌醇三磷酸由磷脂酶产生。不同物种可以使用不同的机制来激活磷脂酶。
16. 雄性和雌性原核携带各自的遗传物质，它们互相迁移靠近。在海胆，雌雄原核合并，形成一个二倍体的合子核。DNA 复制发生在核融合之后。
17. 哺乳动物的受精发生在雌性生殖道内部。雌性生殖道细胞和组织活跃调节雄性和雌性配子的运输和成熟。
18. 精子从阴道至卵的位移受控于子宫肌肉活动、精子在输卵管峡的结合、卵母细胞和（或）环围卵母细胞的卵丘细胞的方向性信息。
19. 哺乳类的精子必须在雌性生殖道中获能才具备受精能力。获能是精子细胞膜的生化变化和细胞质碱化的结果。获能的哺乳动物精子可以穿透卵丘并结合透明带。
20. 在精子与透明带结合的一个模型中，顶体完整的精子与透明带上的透明带蛋白 -3 结合，诱导精子在透明带发生顶体反应。在一个更新的模型中，顶体反应在卵丘细胞中诱发，发生顶体反应的精子与透明带蛋白 -2 结合。
21. 在哺乳类，多精入卵的阻断包括皮质颗粒内容物对透明带蛋白的修饰，导致精子不能再与透明带结合。
22. 两栖类和哺乳类受精时细胞内游离钙的升高使得细胞周期蛋白降解和促分裂原活化的蛋白质激酶失活，这使第二次减数分裂中期得以完成及单倍体雌原核的形成。
23. 在哺乳类，原核互相靠近时 DNA 开始复制，原核彼此接触时核膜解体，染色体聚集在共同的赤道板周围。

拓展阅读

Bartolomei, M. S. and A. C. Ferguson-Smith. 2011. Mammalian genomic imprinting. *Cold Spring Harbor Persp. Biol.* doi: 10.1101/chsperspect.a002592.

Boveri, T. 1902. On multipolar mitosis as a means of analysis of the cell nucleus. [Translated by S. Gluecksohn-Waelsch.] *In* B. H. Willier and J. M. Oppenheimer (eds.), *Foundations of Experimental Embryology*. Hafner, New York, 1974.

Briggs, E. and G. M. Wessel. 2006. In the beginning: Animal fertilization and sea urchin development. *Dev. Biol.* 300: 15–26.

Gahlay, G., L. Gauthier, B. Baibakov, O. Epifano and J. Dean. 2010. Gamete recognition in mice depends on the cleavage status of an egg's zona pellucida protein. *Science* 329: 216–219.

Glabe, C. G. and V. D. Vacquier. 1978. Egg surface glycoprotein receptor for sea urchin sperm bindin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 881–885.

Jaffe, L. A. 1976. Fast block to polyspermy in sea urchins is electrically mediated. *Nature* 261: 68–71.

Jin, M. and 7 others. 2011. Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during in vitro fertilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 4892–4896.

Just, E. E. 1919. The fertilization reaction in *Echinarachinus parma*. *Biol. Bull*. 36: 1–10.

Knott, J. G., M. Kurokawa, R. A. Fissore, R. M. Schultz and C. J. Williams. 2005. Transgenic RNA interference reveals role for mouse sperm phospholipase Cζ in triggering Ca^{2+} oscillations during fertilization. *Biol Reprod.* 72: 992–996.

Parrington, J., L. C. Davis, A. Galione and G. Wessel. 2007. Flipping the switch: How a sperm activates the egg at fertilization. *Dev. Dyn.* 236: 2027–2038.

Vacquier, V. D. and G. W. Moy. 1977. Isolation of bindin: The protein responsible for adhesion of sperm to sea urchin eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 2456–2460.

Wasserman, P. M. and E. S. Litscher. 2016. A bespoke coat for eggs: Getting ready for fertilization. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 539–552.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 8 章

蜗牛和线虫的快速特化

蜗牛的胚胎如何决定向右旋还是向左旋?

受精赋予一个生物个体一套新的基因组，并重排其细胞质。这个过程一旦完成，形成的合子就开启了一个产生多细胞生物个体的过程。在**卵裂**（**cleavage**）期，快速的细胞分裂将合子的细胞质分配到大量的细胞中。在**原肠胚形成**（**gastrulation**）过程中，这些细胞进行迅速的位置替换。细胞运动至胚胎的不同部位，从而获得新的相邻细胞。卵裂和原肠胚形成的不同方式在第 1 章已有阐述（见 pp.10 ～ 13）。

在卵裂和原肠胚形成过程中，多数动物的主要体轴被决定，并且胚胎细胞开始获得各自不同的命运。三个体轴必须被特化：前 - 后（头 - 尾）轴、背 - 腹轴，以及左 - 右轴（见图 1.6）。不同的物种在不同的时间并使用不同的机制特化这些体轴。卵裂总是发生在原肠胚形成之前，但是在有些物种，如果蝇（*Drosophila*），体轴的形成早在卵母细胞形成时就已经开始。在另外一些物种，如被囊类，体轴的形成起始于卵裂期；然而在其他一些物种，如爪蛙（*Xenopus*），体轴的形成过程贯穿原肠胚形成的各个时期。



要点

发育的方式在动物类群的分类中扮演主要角色。一个主要的分类标准是身体的前端（口）或者后端（肛门）首先发育。蜗牛（腹足类软体动物）和线虫类（圆蠕虫）的口首先形成，并且进化出体轴和细胞命运快速特化的方式。这种方式通常是在早期卵裂过程中将转录因子置于特定的卵裂球。这些转录因子可以自主性地决定细胞命运，或者也可以通过激活旁分泌因子信号途径从而诱导相邻细胞的命运决定。尤其是蜗牛胚胎的 D 象限卵裂球具有“组织者”的功能，可以塑造整个胚胎的形态发生。秀丽隐杆线虫透明的外皮、少量的细胞和小型的基因组，使得其发育的研究成为理解基因如何控制体轴形成和细胞特化的模型。

本书涉及早期发育的这一章将阐述几个不同类群中有代表性的物种如何进行卵裂、原肠胚形成、体轴特化及细胞命运决定。除了第 12 章涉及一些人类的示例以外，差不多所有描述的物种和类群（包括蜗牛、线虫、果蝇、海胆、蛙、斑马鱼、鸡、小鼠）都已经成为发育生物学家的重要**模式生物**（**model organism**）。换句话说，这些物种易于在实验室中进行饲养，而且具有某些特征，使其发育机制便于观察。这些特征包括世代时间短、繁殖力强大、易于进行遗传学及手术操作，并且能够在实验室条件下生长发育。然而，能够在实验室条件下进行发育的能力有时也限制了我们去探索一些有关发育与生物个体自然栖息环境之间关系的问题，如我们将在第 25 章讨论的那样。

这一章将详细讨论腹足纲软体动物（以蜗牛为代表）和线虫（以秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 为代表）这两个类群的原口无脊椎动物的早期发育。但内容将以胚胎发育为视角，首先简要地讲述动物的进化和分类。

8.1 后生动物的发育图式

真核生物（**eukaryotic organism**）意味着其细胞具有细胞核和几条进行有丝分裂的不同染色体。**多细胞真核生物**（**multicellular eukaryotic organism**），如植物、真菌或者动物，意味着有丝分裂形成的细胞保持在一个具有功能的整体，而且其后代也是由多个细胞组成的相同个体。一个**后生动物**（**metazoan**）意味着它是一个动物，而一个动物意味着它必须经历原肠胚形成。所有的动物都经历原肠胚形成，并且只有动物才具有原肠胚形成。

不同类群的生物经历不同的发育图式。当我们说有 35 个后生动物门时，我们是在说有 35 种动物发育的生存图式（见 Davidson and Erwin 2009；Levin et al. 2016）。这些组织化图式不是通过直线方式，而是以分支路径进化的。**图 8.1** 显示后生动物的四个主要分支：基础门类、冠轮动物类原口动物、蜕皮动物类原口动物、后口动物。

8.1.1 基础门类

具有外胚层和内胚层这两个胚层，但不具有中胚层或具有极少中胚层的动物被称为**双胚层动物**（**diploblast**）。传统的双胚层动物包括腔肠动物（水母和水螅）和栉水母类（栉水母）。近来的基因组研究表明栉水母动物进化枝与所有其他动物是姊妹群，而不是长期以来认为的海绵动物（Ryan et al. 2013；Moroz et al. 2014）。海绵明显地具有一些形成神经系统的基因，虽然现代的海绵类群没有神经系统。这一发现显示，在进化过程中，神经系统在海绵这一谱系中丢失了，而不是从未在这类动物中出现过。腔肠动物（而不是海绵）是最古老的现存后生动物谱系的假说仍然存在争议，尽管有越来越多的证据支持这一论点（Borowiec et al. 2015；Chang et al. 2015；Pisani et al. 2015）。

此外，长期以来一直认为双胚层腔肠动物和栉水母类都是放射状对称，且不具备中胚层。而**三胚层动物**（**triploblast**）门类（所有其他动物）都呈两侧对称，并且具有第三个胚层，即中胚层。然而，针对腔肠动物，这种泾渭分明的划分就成为疑问。尽管某些腔肠动物（如水螅）不具备真正的中胚层，其他腔肠动物则具有一定的中胚层，并且一些腔肠动物在它们生命周期的某些阶段具有两侧对称的体型（Martindale et al. 2004；Martindale 2005）。然而，腔肠动物中胚层的进化可能独立于其他原口动物和后口动物中出现的中胚层。我们现在注意到水母具有横纹肌（对它们的推进运动是必需的），但无论从分子还是从发育的水平上看，水母的肌肉似乎与脊椎动物或者昆虫中来自中胚层的肌肉没有关联（Steinmetz et al. 2012）。这种独立产生的收缩性细胞提供了进化趋同的一个典型事例。

8.1.2 三胚层动物：原口和后口动物

绝大部分后生动物具有三个胚层，因此称为三胚层动物。中胚层的进化使动物具有更好的运动能力

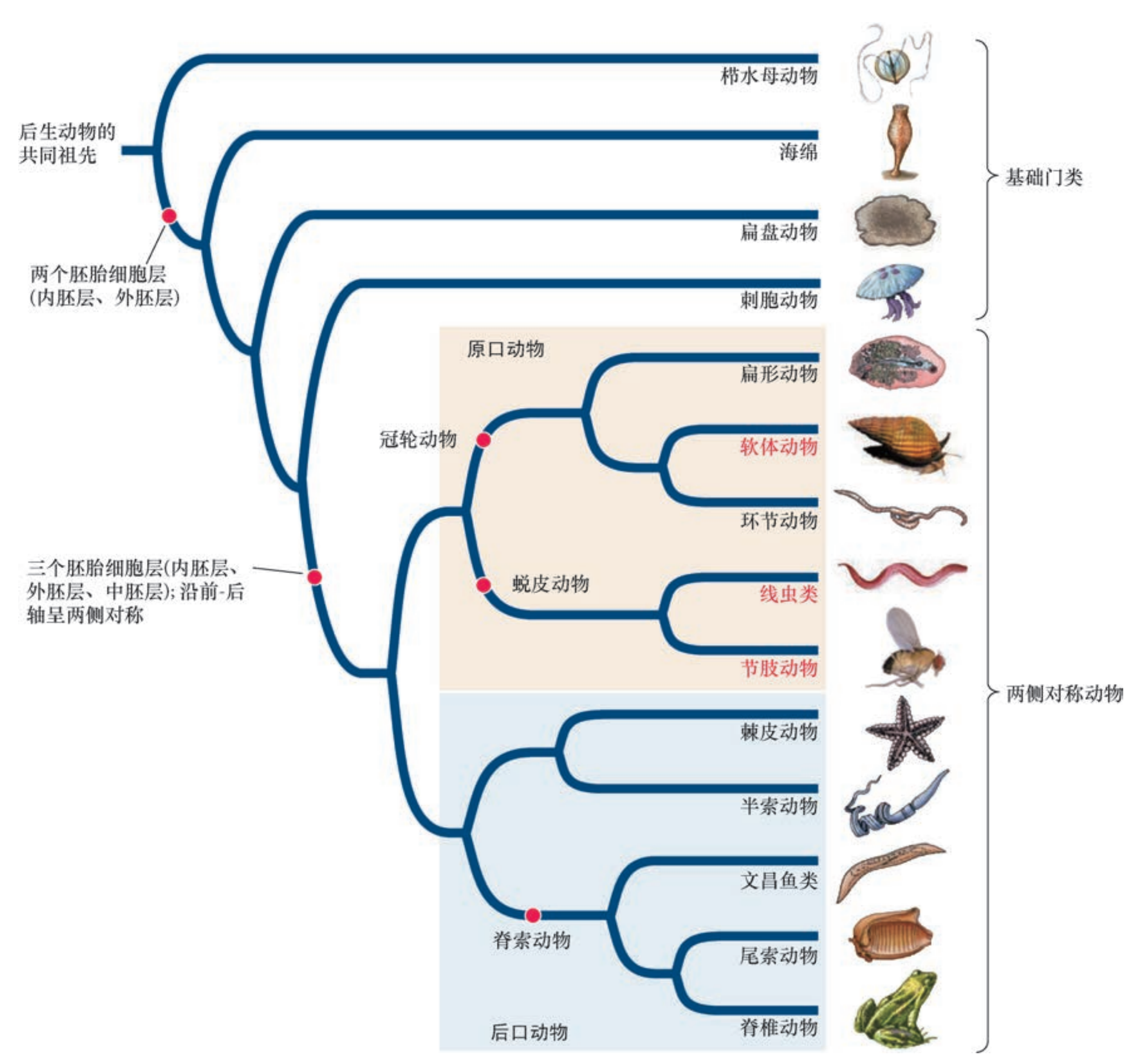


图 8.1　后生生物（动物）进化树。在这一进化树中，栉水母动物是其他动物的姊妹进化枝，也就是最早从其他动物分支出来的类群。现存的四个主要动物类群是基础门类、冠轮动物类原口动物、蜕皮动物类原口动物及后口动物。图中展示三种原口动物（红色）的照片：腹足类软体动物（蜗牛）、线虫中的秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*）和果蝇（*Drosophila*）。这代表它们的发育将在本章及第 9 章详细讲述。后口动物将在第 10 章、第 11 章和第 12 章讲述（来源包括 Bourlat et al. 2006；Delsuc et al. 2006；Schierwater et al. 2009；Hejnol 2012；Ryan et al. 2013）。

和更大的体型，这是因为中胚层演化出动物的肌肉和循环系统。由于三胚层动物具有两侧对称的体型，也就是说，它们的身体具有左右两侧，因此也被称为**两侧对称动物**（**bilaterian**）。两侧对称动物又被进一步分类为**原口动物**（**protostome**）或**后口动物**（**deuterostome**）。

原口动物　原口动物（“protostome”，来自希腊语，“第一”和“口”）包括软体动物门、节肢动物门和蠕虫动物门。因为它们的口在原肠胚形成所产生的肠开口处或者附近首先形成，因此而得名。肛门的形成是在口形成之后，并且是在不同的位置。原口动物的**体腔**（**coelom**），或者身体的空腔，是由中胚层细胞组成的实心索状结构通过空腔化而形成的，这一过程称为**裂体腔方式**（**schizocoely**）。

原口动物具有两个主要分支。**蜕皮动物**（**ecdysozoan**，希腊语“ecdysis”的意思是“摆脱”或者“脱落”）是能够蜕去外骨骼的动物。最主要的蜕皮动物类群是节肢动物门，包括昆虫、蛛形类、螨类、甲壳类及千足虫类。这是一门被广泛深入研究的动物。分子生物学的研究结果将另一类群的蜕皮动物——线虫类，也归属于这一进化枝。第二个主要的原口动物类群是**冠轮动物**（**lophotrochozoan**）。其成员的特征是具有共同的卵裂类型（螺旋式）和幼体形态（担轮幼体）。担轮幼体（Trochophore，希腊语“trochos”

的意思是“轮子”）是一种浮游的幼体形态，其特征是具有运动纤毛组成的条带。一些种类的冠轮动物的成体具有独特的摄食器，即触手冠。冠轮动物在 35 个后生动物门中具有 14 个门，包括扁虫、环节动物和软体动物。其螺旋卵裂程序极具类群特征，因此“螺旋卵裂动物”是用来描述这一进化枝的另一个术语（Henry 2014）。

后口动物　主要的后口动物谱系是脊索动物（包括脊椎动物）和棘皮动物。尽管将人类、鱼类、蛙类与海星、海胆等动物划分成同一个大类群显得有些怪异，然而一些胚胎学特征证实了这些动物之间的亲缘关系。首先，在后口动物（“deuterostome”，来自希腊语，“第二”和“口”），口的开口在肛门的开口之后形成。另外，原口动物的体腔是由紧实的中胚层通过空腔化形成（即前面提到的裂体腔方式），而多数后口动物通过从消化道延伸出的中胚层囊而形成体腔，这个过程称为**肠体腔方式**（**enterocoely**）。然而，针对这一普遍性也存在许多例外（见 Martín-Durán et al. 2012）。

文昌鱼类（头索动物亚门；文昌鱼）和被囊类（尾索动物亚门；海鞘）都是无脊椎动物，因为它们都没有脊柱。然而，这些动物的幼体具有脊索和咽弓（头部结构），表明它们都是脊索动物（“脊索动物”中的“索”指的是脊索，它能诱导脊椎动物脊髓的形成）。Alexander Kowalevsky（1867，1868）的这一发现成为生物学的一个里程碑。这些生物的发育阶段将无脊椎动物和脊椎动物整合到同一个“动物界”。达尔文（1874）兴奋地注意到，脊椎动物可能起源于一类与被囊类幼体相类似的动物。的确，尾索动物亚门现在被认为是与脊椎动物关系最近的动物类群。这一关系现在已被发育的相似性和分子生物学研究的结果所证实（Bourlat et al. 2006；Delsuc et al. 2006），纠正了之前认为头索动物与脊索动物是姊妹群的观点。

现在我们开始回到对两类原口动物早期发育的详细描述：蜗牛（有壳腹足类软体动物）和秀丽隐杆线虫（一种已被详尽研究的线虫类蠕虫）。尽管它们之间存在差异，这两类无脊椎动物都进化出向幼体时期快速发育的方式，再通过随后的生长变为成体（Davidson 2001）。它们的共同点包括：

- 迅速的合子基因激活；
- 合子基因及母体基因产物对卵裂产物（卵裂球）的快速特化作用；
- 在原肠胚形成开始时，细胞的数量较少（几百个细胞或者更少）。

8.2　蜗牛的早期发育

蜗牛作为发育生物学研究的模式生物已经具有很长的历史。蜗牛在所有大陆的沿岸都广泛存在，可以在实验室中良好地生长，并且展现出与它们的环境需求相关联的发育变异。有些蜗牛也具有较大的卵并且快速发育，在发育的很早期特化各种细胞类型。尽管每种生物的细胞特化都利用自主性和调节性这两种方式（见第 2 章），但蜗牛可以作为自主性（嵌合性）发育的最好事例之一，一个早期卵裂球的缺失就会造成整个结构的完全丢失。的确，在蜗牛胚胎中，参与形成某些器官的细胞具有很大程度的区域性定位。实验胚胎学的结果现在可以被分子生物学的研究延伸（和阐释），从而获得一些引人入胜的发育和进化的整合信息（见 Conklin 1897；Henry et al. 2014）。

8.3　蜗牛胚胎的卵裂

“螺旋是软体动物的根本主题。它们是围绕自身扭转的动物”（Flusser 2011）。的确，蜗牛的壳呈螺旋式，它们的幼体进行 180° 的扭转，导致肛门位于前部，即头的上方。最重要的是，蜗牛早期胚胎的卵裂也呈螺旋式（见图 1.5）。**螺旋完全卵裂**（**spiral holoblastic cleavage**）是几种动物类群的典型特征，包括环节动物类蠕虫、扁形动物类扁虫，以及大多数软体动物（Lambert 2010；Hejnol 2010）。进行螺旋卵裂的胚胎的卵裂面与卵的动物 - 植物极轴既不平行也不垂直，而是呈现出一定的倾斜角，从而使卵裂后的子细胞形成螺旋状的空间排列。卵裂球之间具有密切接触，形成热力学稳定的空间排列，犹如堆积在一起的肥皂泡。

此外，螺旋卵裂的胚胎在原肠胚形成之前进行分裂的次数通常较少，因此有可能追踪囊胚中每个细胞的命运。当我们比较环节动物、扁虫及软体动物胚胎中每个卵裂球的命运时，就会看到许多相同的细胞都处在相同的位置，并且其总体命运也是相同的（Wilson 1898；Hejnol et al. 2010）。螺旋卵裂形成的囊胚通常具有很小的囊胚腔或者没有囊胚腔，称为**实囊胚**（**stereoblastula**）。

网络话题 8.1　发育提供了动物分类的早期认知　在 1898 年，也就是早在分子生物学数据证实环节动物、多肠目扁虫及软体动物都与冠轮动物相关之前，E. B. Wilson 就已经得出这些类群具有关联的结论。不仅仅是因为它们之间具有同源的螺旋卵裂，也是因为它们的许多胚胎细胞具有同源的命运（包括下面将要详述的 4d 卵裂球）。看一下胚胎学在一个世纪之前的情况。

图 8.2 描述了许多软体动物胚胎的典型卵裂图式。最开始的两次卵裂几乎是以经线的方式排列的，形成四个大分裂球（分别以 A、B、C、D 标记）。在许多物种，这四个卵裂球的大小不一（D 最大），成为鉴别单一卵裂球的特征。在每一次后续的卵裂中，每个**大分裂球**（**macromere**）在其动物极处长出一个**小分裂球**（**micromere**）。后续的每四个小分裂球的位置相对于它们的每个姊妹大分裂球分别向左偏或者向右偏，产生典型的螺旋图式。如果从动物极向下观察胚胎，最上端的有丝分裂纺锤体以顺时针和逆时针交替的方式排列（**图 8.3**）。这一排列方式使得小分裂球相对于各自的大分裂球以向左或向右倾斜的方式交替形成。

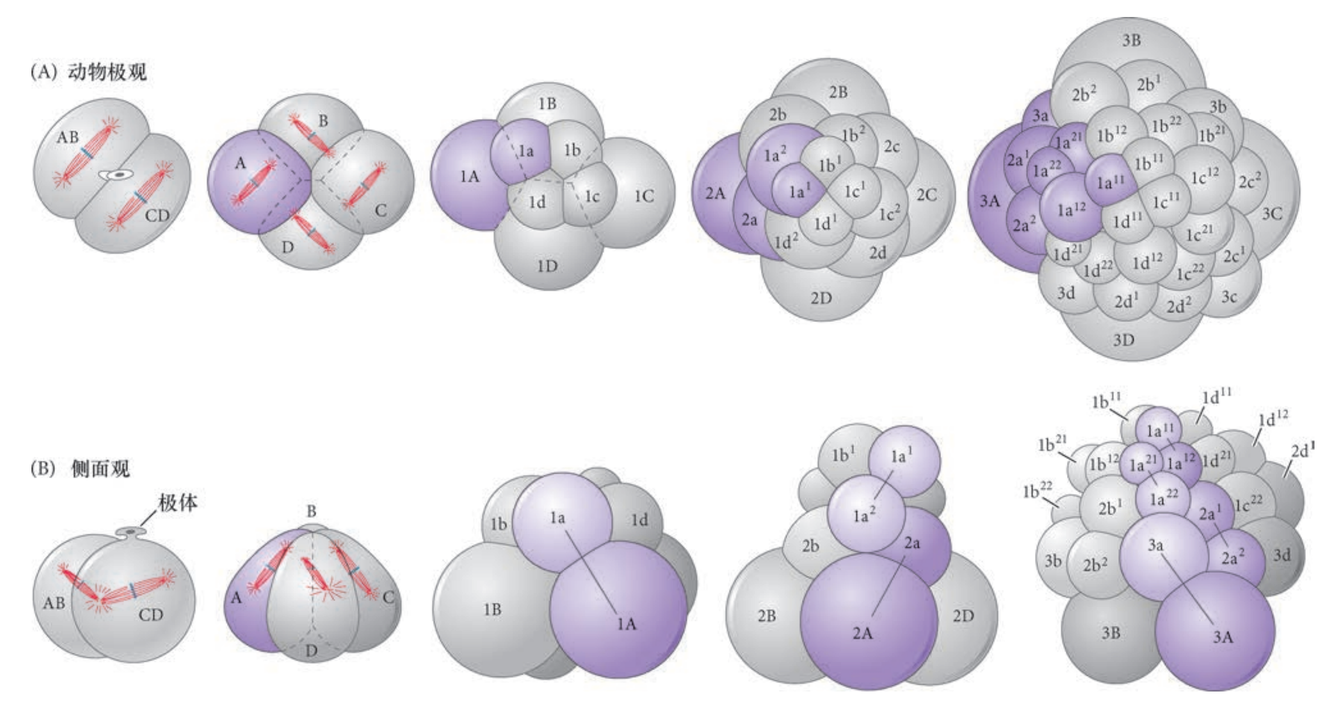


图 8.2　从动物极（A）和从侧面（B）观察蜗牛（*Trochus*）胚胎的螺旋卵裂。从 A 卵裂球分裂产生的细胞以彩色表示。在早期胚胎中显示的有丝分裂纺锤体将细胞不均等地分裂，并且与水平和垂直轴呈一定的角度。每一组逐次形成的四个小分裂球（以小写字母标记）以相对于其姊妹大分裂球（以大写字母标记）顺时针或者逆时针方向置换位置，产生特征性的螺旋图式。

观察发育 8.1　Deirdre Lyons 博士实验室的视频，显示大西洋舟螺（*Crepidula fornicata*）胚胎前两批四个小分裂球的形成。

在第三次卵裂时，大分裂球 A 产生两个子细胞，即大分裂球 1A 和小分裂球 1a。卵裂球 B、C、D 的情形也类似，产生首批四个小分裂球。在多数物种，这些小分裂球处在它们的大分裂球的顺时针方向

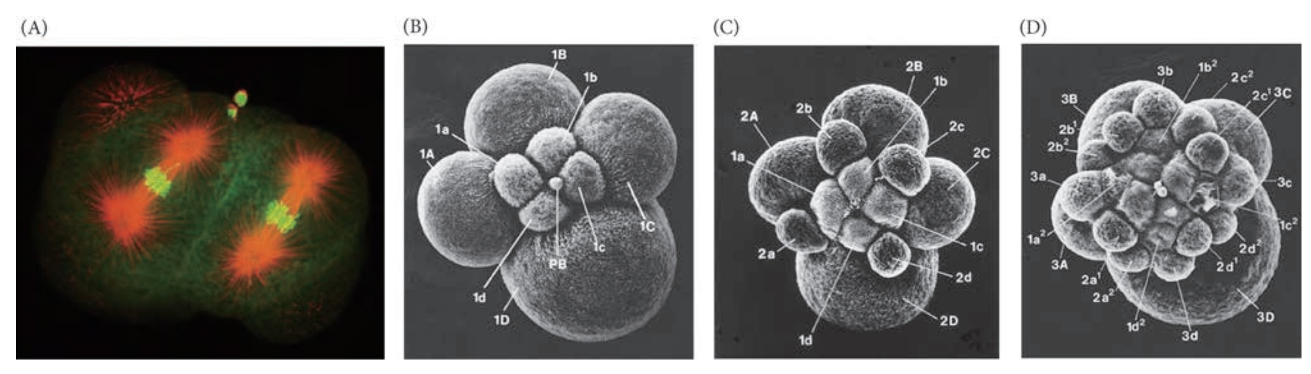


图 8.3　软体动物的螺旋卵裂。(A) 蚌 (*Acila castrenis*) 4 细胞期胚胎的共聚焦荧光显微照片，可看到第三次卵裂的螺旋式特性。红色染微管，绿色染 RNA，黄色染 DNA。图中可见两个细胞及第三个细胞的一部分，在图的顶部可看到一个极体。(B ～ D) 东泥织纹螺 (*Ilyanassa obsoleta*) 胚胎的卵裂。D 卵裂球大于其他细胞，使得每个细胞都可以被区分开来。卵裂呈右旋式。(B) 8 细胞期。PB，极体（减数分裂的一个残留细胞）。(C) 第四次卵裂的中间阶段 (12 细胞期)。大分裂球已经分裂成大的和小的呈螺旋式排布的细胞；1a ～ d 尚未分裂。(D) 32 细胞期胚胎 (A 图由 G. von Dassow 和 Center for Cell Dynamics 提供；B ～ D 图来自 Craig and Morrill 1986，由作者提供)。

（从动物极向下观察，位于大分裂球的右侧）。在第四次卵裂时，大分裂球 1A 分裂成大分裂球 2A 和小分裂球 2a，而小分裂球 1a 分裂成两个小分裂球 $1a^1$ 和 $1a^2$（见图 8.2）。第二批四个小分裂球处在大分裂球的左侧。进一步的分裂从大分裂球 2A 中产生卵裂球 3A 和 3a，小分裂球 $1a^2$ 进一步分裂产生 $1a^{21}$ 和 $1a^{22}$。在正常发育过程中，首批四个小分裂球形成头部结构，第二批四个小分裂球形成平衡囊（平衡器官）和壳。细胞质定位和诱导这两个因素共同特化这些细胞的命运 (Cather 1967；Clement 1967；Render 1991；Sweet 1998)。

8.3.1　蜗牛卵裂的母体调控

卵裂面向左或者向右的定向受控于卵母细胞中的细胞质因子。这一机制在分析蜗牛旋转的突变中被发现。有些蜗牛的螺旋开口位于壳的右侧，即**右旋** (**dextral coiling**)，而另一些开在左侧，即**左旋** (**sinistral coiling**)。通常，在一个特定物种中所有个体的螺旋方向都一致，但也偶见少数突变个体（也就是说，在一个右旋的蜗牛群体中，有几个开口在左侧的个体）。Crampton (1894) 分析了异常蜗牛的胚胎，发现它们的早期卵裂与正常胚胎不同（图 8.4）。由于有丝分裂器定向的差异，导致左旋蜗牛胚胎在第二次卵裂后细胞的定向不同。你们可以在图 8.4 中看到 4d 卵裂球的位置在右旋和左旋蜗牛胚胎中完全不同。这个 4d 卵裂球很特殊，常被称为**成中内胚层细胞** (**mesentoblast**)，因为它的后代细胞形成大部分的中胚层器官（心脏、肌肉、原生殖细胞）和内胚层器官（肠管）。

例如，在椎实螺属 (*Lymnaea*) 的蜗牛中，其壳的螺旋方向仅受一对基因控制 (Sturtevant 1923；Boycott et al. 1930；Shibazaki 2004)。在椎实螺 (*Lymnaea peregra*) 中发现有左旋的突变体，将这种突变体与野生型右旋蜗牛进行交配后显示右旋等位基因 *D* 对于左旋等位基因 *d* 呈显性。然而卵裂的方向却不是由发育中的蜗牛的基因型所决定，而是取决于母本蜗牛的基因型。这一效应称为**母体效应** (**maternal effect**)。我们在讨论果蝇发育的时候将会看到其他重要的母体效应基因。基因型为 *dd* 的雌性蜗牛只能产生左旋的后代，即便后代的基因型是 *Dd*。一个基因型为 *Dd* 的个体的螺旋方向或者向左或者向右，这依赖于其母本的基因型。通过交配可以产生以下所示的基因型和表型之间的关系：

基因型		**表型**	
DD 雌性 × *dd* 雄性	→	*Dd*	全部右旋
DD 雄性 × *dd* 雌性	→	*Dd*	全部左旋
Dd × *Dd*	→	1*DD* ∶ 2*Dd* ∶ 1*dd*	全部右旋

因此，产生卵母细胞的卵巢的基因型决定了卵裂的方向。参与螺旋的遗传因子从卵母细胞的细胞质中被带到胚胎。Freeman 和 Lundelius（1982）将右旋蜗牛的少量细胞质注射到 *dd* 基因型母本的卵中，得到了向右螺旋的胚胎。但左旋蜗牛的细胞质对右螺旋的胚胎没有影响。这些发现证实了野生型母本将某个因子置于其卵中，但在 *dd* 基因型的母本中不存在这样的因子或这样的因子有缺陷。Davison 及其同事利用类似的蜗牛群体鉴别并定位了一个编码形成蛋白（formin）的基因。这个蛋白质在具有 *D* 等位基因的母本的卵中具有活性，但在 *dd* 基因型的母本的卵中没有活性（Liu et al. 2013；Davison et al.2016）。因此，*DD* 和 *Dd* 基因型的母本产生具有活性的形成蛋白。然而，在 *dd* 基因型的雌性中，形成蛋白质的基因在其编码区出现一个移码突变，导致其 mRNA 失去功能，进而被迅速降解。但卵中含有来自母本 *D* 等位基因的正常 mRNA 时，这一信使 RNA 早在 2 细胞期便不对称地分布在胚胎中。这个信使 RNA 编码的形成蛋白与肌动蛋白结合，帮助排列细胞骨架。如果用药物抑制形成蛋白，从 *DD* 基因型的母本的卵所得到的胚胎也可以呈左旋发育。这一结果也证实了上述发现。

细胞呈左旋分裂而不是右旋分裂的首个信号是大分裂球背部顶端细胞膜的螺旋状形变（**图 8.5A**）。在第三次卵裂开始时，Nodal 蛋白（转化生长因子 -β 旁分泌蛋白家族的一个成员）在右旋胚胎的右侧或者在左旋胚胎的左侧激活一些基因的表达（**图 8.5B**）。在 8 细胞期用玻璃针改变卵裂的方向能够改变 *Nodal* 基因表达的位置（Grande and Patel 2009；Kuroda et al. 2009；Abe et al. 2014）。Nodal 蛋白倾向在 C 象限的小分裂球谱系（形成外胚层）中表达，并且在相邻 D 象限的卵裂球中诱导编码转录因子 Pitx1 的基因（也是脊椎动物体轴形成过程中 Nodal 的一个靶基因）的不对称表达（**图 8.5C**）。

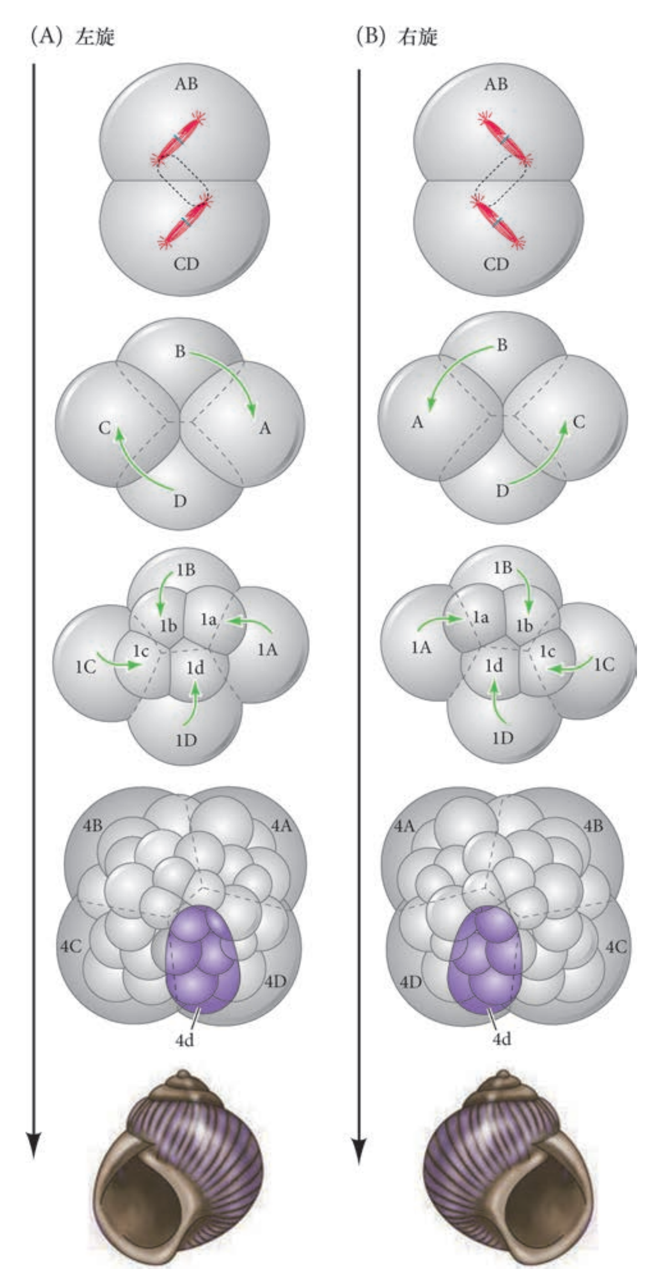
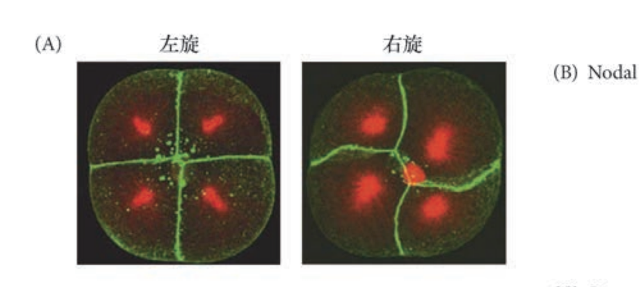


图 8.4　蜗牛壳的右旋和左旋。从左旋（A）和右旋（B）蜗牛的动物极向下看，左旋或右旋的起始点可以追溯到第三次卵裂时有丝分裂纺锤体的定向。左旋和右旋蜗牛以彼此为镜像的方式发育（参考 Morgan 1927）。

网络话题 8.2　**一篇将基因和发育联系起来的经典论文**　1923 年，Alfred Sturtevant 在一个巧妙的实验中将孟德尔遗传学应用于研究蜗牛的螺旋形成。这是最先将遗传学这一有力手段与胚胎学研究联系起来的工作之一。

观察发育 8.2　观看 Reiko Kuroda 博士实验室制备的蜗牛右旋和左旋的视频。



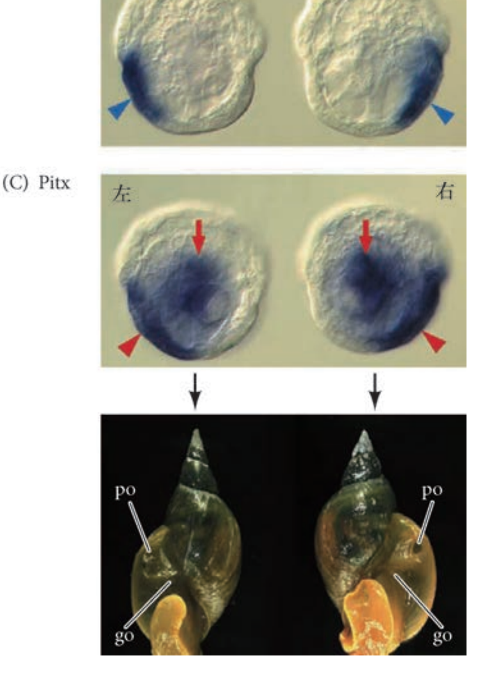


图 8.5 蜗牛右旋和左旋的机制。(A) 第三次卵裂时的左旋和右旋。将肌动蛋白（绿色）和微管（红色）染色后可以看到右旋卵裂的螺旋状形变。(B) 在胚胎中，Nodal 在左旋胚胎的左侧和在右旋胚胎的右侧被激活。(C) 胚胎中 Pitx1 转录因子的表达（上排）参与器官形成，如成体的腹侧观所示（下排）。图中标出了呼吸孔 (pneumostome；po) 和生殖腺 (go) 的位置（来自 Kuroda 2014，图由 R. Kuroda 提供）。

拓展性问题

成为左撇子或者右撇子有关系吗？对于一个人来说，左撇子或右撇子对其生活或许不会产生显著的影响。但对于蜗牛，这却是一个对个体及蜗牛群体的进化都具有关键影响的问题。对于蜗牛来说，左旋蜗牛可以顺理成章地与左旋蜗牛交配，而右旋蜗牛可以更顺利地与右旋蜗牛交配，这只是一个生殖器官的位置和体型匹配的问题。有的蛇类以具壳的蜗牛为食。这些蛇类的颌发生了演化使其更容易摄食右旋蜗牛。那么在蜗牛和蛇共存的地区，蛇的进化适应又在多大程度上影响了蜗牛的进化？（见 Hoso et al. 2010 论文中一系列饶有趣味的实验）。

8.3.2 蜗牛的命运图谱

详细的命运图谱（见第 1 章和第 2 章）极大地推进了我们对螺旋卵裂动物发育的认知。将荧光染料偶联的大分子聚合物注射到特定的小分裂球，人们构建了腹足类东泥织纹螺和大西洋舟螺 (*Crepidula fornicata*) 的命运图谱 (Render 1997；Hejnol et al. 2007)。荧光能够维持在整个胚胎发育时期，并且逐渐分布在来自注射细胞的幼体组织。利用活体成像则能够得到更特异的结果，显示出不同蜗牛物种之间的差异（**图 8.6**；Chan and Lambert 2014；Lyons et al. 2015）。

通常，第一个四细胞组的小分裂球 (1a ～ 1d)，加之来自第二个和第三个四细胞组的小分裂球的部分细胞，一起产生头部外胚层，而神经系统主要来自第一个和第二个四细胞组的小分裂球（见图 8.6A）。命运图谱也证实了口和胚孔形成于同一位置。内胚层来源于大分裂球 A、B、C、D。中胚层的来源有两个：第二个和第三个四细胞组的小分裂球的一些细胞形成幼体和成体的肌肉组织（外中胚层），而中胚层的主要部分，包括幼体的肾、心脏、原生殖细胞及牵缩肌，来自一个非同寻常的细胞，即 4d 卵裂球（见图 8.6C）。这个高度保守的螺旋卵裂动物的卵裂球对于建立中胚层的空间位置及诱导其他细胞类型的形成具有至关重要的作用 (Lyons et al. 2012)。如前所述，这个细胞最为直接地受到螺旋突变的影响。

8.3.3 细胞的特化和极叶

软体动物可以提供一些有关自主性发育（嵌合性发育）的生动事例。在这一过程中，卵裂球被位于

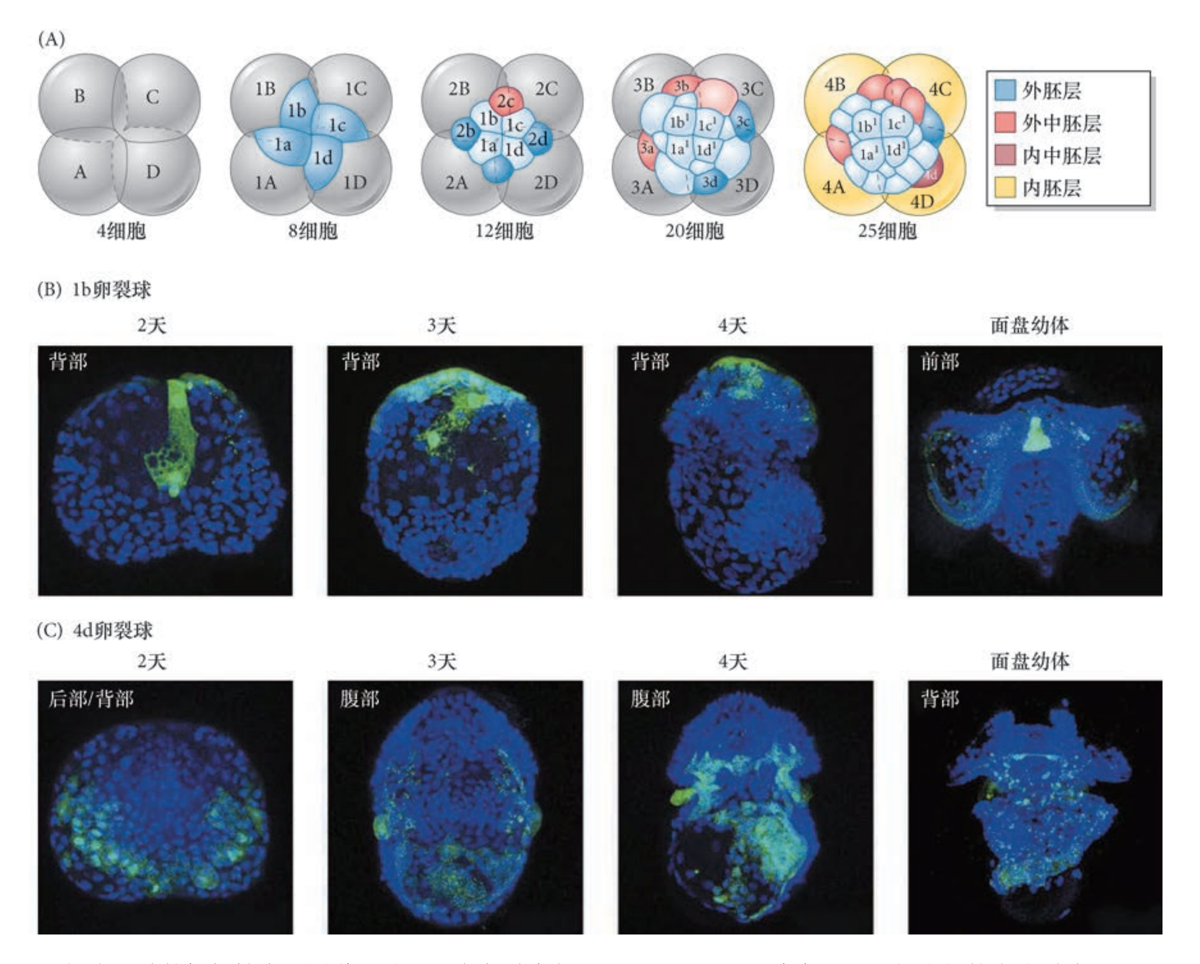


图 8.6　(A) 蜗牛胚胎的概括性命运图谱。最早两次卵裂建立了 A、B、C、D 四个象限。四细胞组的小分裂球 (1a ～ 1d 及 3a ～ 3d) 在富含卵黄的大分裂球上方形成，并分裂产生一个“小分裂球帽”。大分裂球 (3A ～ 3D) 产生大部分的内胚层，而顶端小分裂球产生外胚层。位于第二和第三层位的特定小分裂球（不同物种之间有所区别）形成外中胚层，而内中胚层（心脏及肾）来自 4d 细胞。这个细胞通常是在 3D 细胞先于其他大分裂球分裂时形成。(B，C) 将带有荧光染料的微小珠子注射进单个卵裂球就可以获得命运图谱。当胚胎发育成幼体时，每个卵裂球的后代细胞都可以通过其荧光予以鉴别。(B) 将绿色荧光蛋白注射到东泥织纹螺的 1b 卵裂球后所得到的结果。(C) 注射 4d 卵裂球的结果 (A 图参考 Lyons and Henry 2014；B 图来自 Chan and Lambert 2014，照片由作者提供）。

卵母细胞特定位置的形态发生决定物所特化（见第 2 章）。早期卵裂球的自主性特化在具有螺旋卵裂的动物类群中尤其显著。这些动物的原肠胚形成在胚胎仅有几十个细胞的时候即从植物极起始 (Lyons et al. 2015)。在软体动物中，一些转录因子和旁分泌因子的 mRNA 通过与一些中心体联结而被置入特定的细胞（**图 8.7**；Lambertand Nagy 2002；Kingsley et al. 2007；Henry et al. 2010b，c)。这一联结能够使 mRNA 特异地进入其中一个子细胞。在很多情况下，被共同转运至特定层位卵裂球中的一些 mRNA 的 3′ 尾端形成很相似的结构，暗示小分裂球层位的一致性主要受控于每次分裂中与中心体联结的 mRNA 的 3′ 端非翻译区（**图 8.8**；Rabinowitz and Lambert 2010)。在其他的情况下，一些图式形成分子（其特性尚不明确）似乎与卵的特定区域结合，形成一个称为极叶的独特结构。

极叶　E. B. Wilson 和他的学生 H. E. Crampton 观察到，在第一次卵裂之前，一些螺旋卵裂的胚胎（大多是软体动物和环节动物的胚胎）产生细胞质的球状突出，即**极叶** (**polar lobe**)。在一些蜗牛物种中，连接极叶和卵的其余部分的区域变成一个细管状的结构。合子的第一次卵裂是不对称的，所以极叶仅与 CD 卵裂球相连（**图 8.9A**)。在多种动物的胚胎中，细胞质的近 1/3 体积被包含在这一无核的极叶中，使其看起来好像是另一个细胞（**图 8.9B**)。这样形成的三叶式结构被称为胚胎的三叶期（**图 8.9C**)。

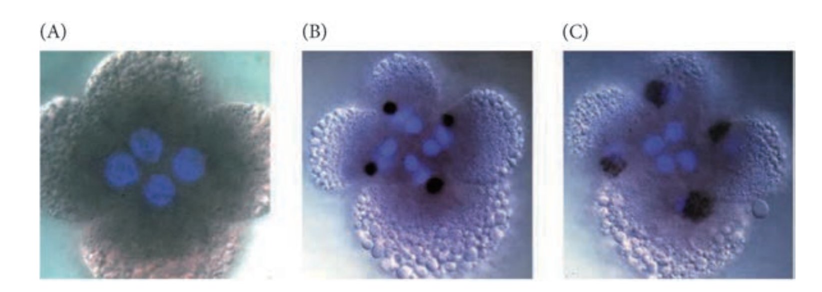


图 8.7 东泥织纹螺中 *decapentaplegic*(*dpp*) 的 mRNA 与特定中心体的联系。(A) Dpp 的 mRNA 原位杂交显示，在 4 细胞期蜗牛胚胎中没有表达。(B) 从 4 细胞到 8 细胞的分裂前期，Dpp 的 mRNA（黑色）在其中一个形成有丝分裂纺锤体的一对中心体中积累。DNA 呈浅蓝色。(C) 在后续的有丝分裂过程中，Dpp 的 mRNA 集中在大分裂球的中心体而在小分裂球的中心体没有表达。Dpp 的基因编码一个骨形态发生蛋白样的旁分泌因子，对软体动物的发育至关紧要（来自 Lambert and Nagy 2002，图由 L. Nagy 提供）。

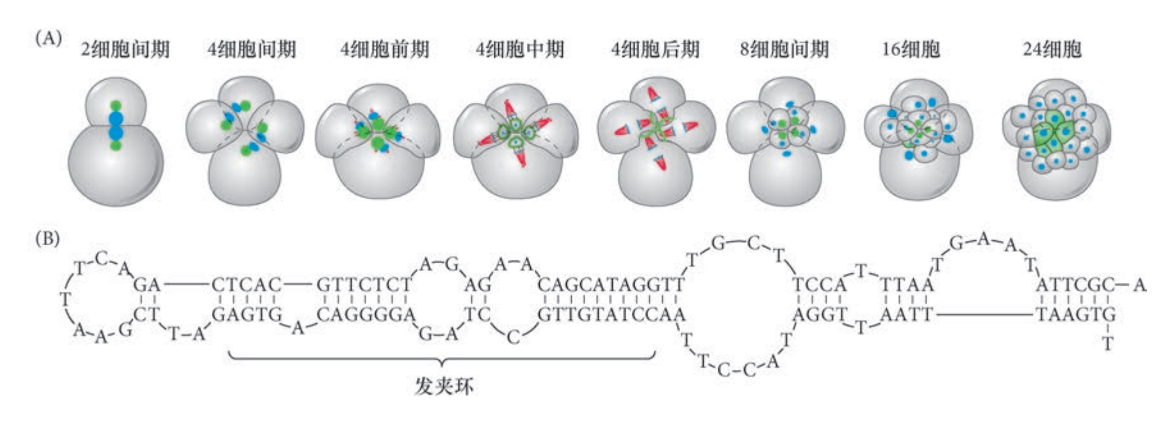


图 8.8 信使 RNA 上的 3′ 端非翻译区与特定中心体结合的重要性。在东泥织纹螺中，*R5LE* 信使通常被分隔到第一层位的小分裂球中。这一信使与中心体复合体的一侧（将处于小分裂球的那一侧）结合。(A) 从 2 细胞期到 24 细胞期 *R5LE* 的 mRNA 的正常分布。mRNA（绿色）与产生小分裂球层位的中心体区域（蓝色）相结合，并且逐渐定位于 24 细胞期胚胎的特定卵裂球。(B) *R5LE* 信使上 3′ 端非翻译区的发夹结构（参考 Rabinowitz and Lambert 2010）。

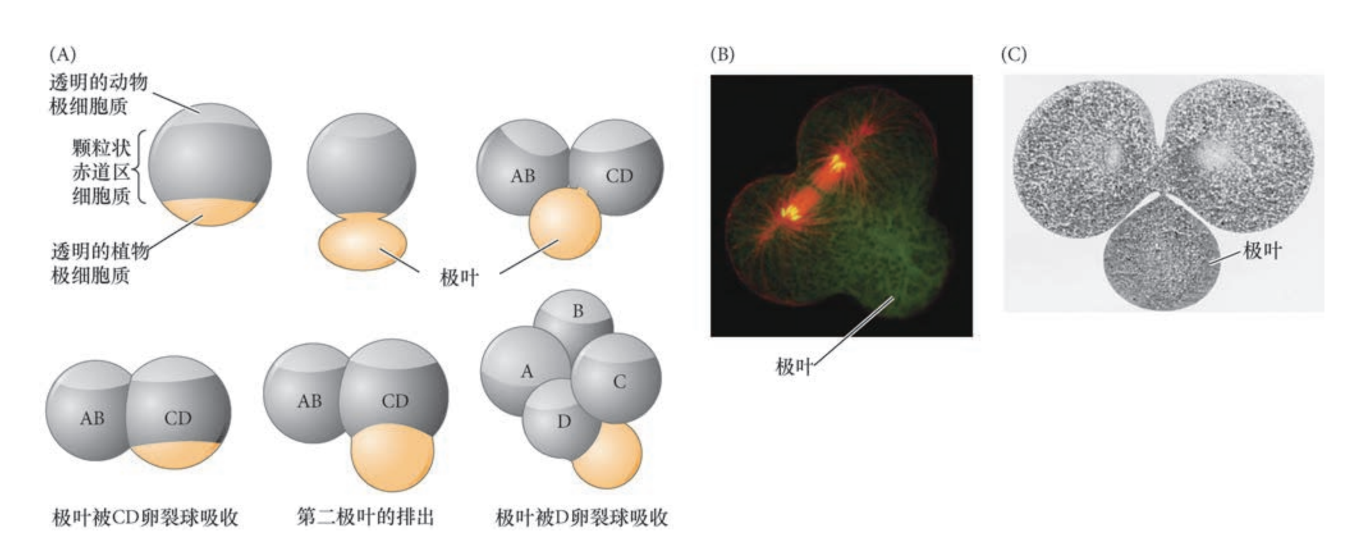
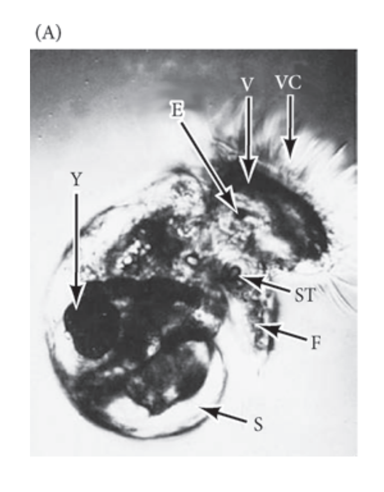


图 8.9 极叶的形成。(A) 卵裂期发生两次极叶的挤出和重新并入。CD 卵裂球吸收极叶物质并在第二次卵裂前再次将其挤出去。在这次卵裂之后，极叶仅与吸收其细胞质的 D 卵裂球相连。此后，再无极叶形成。(B) 在扇贝胚胎第一次卵裂的晚期，无核的极叶（右下方）包含了几乎 1/3 体积的细胞质。红色显示微管，绿色显示 RNA，黄色显示染色体 DNA。(C) 角贝（*Dentalium*）第一次卵裂期或者三叶期胚胎的切片（A 图参考 Wilson 1904；B 图由 G. von Dassow 以及 the Center for Cell Dynamics 提供；C 图由 M. R.Dohmen 提供）。

Crampton（1896）证明，如果在三叶期将极叶去除，剩余的细胞能够正常分裂。然而，这样得到的幼体是不完整的（图 8.10），完全缺少肠内胚层、中胚层的肾和心脏，以及部分外胚层器官（比如眼）。此外，Crampton 证明，如果在 4 细胞期的胚胎中去除 D 卵裂球，也可以得到具有相同缺陷的幼体。因此，Crampton 得出结论，极叶的细胞质中含有形成心脏和肠的决定物，并且这些决定物（以及它们的诱导能力）被传递到 D 卵裂球 [1]。Crampton 还显示，这些中内胚层决定物的位置在受精后不久就已经确立。

(A)



(B)

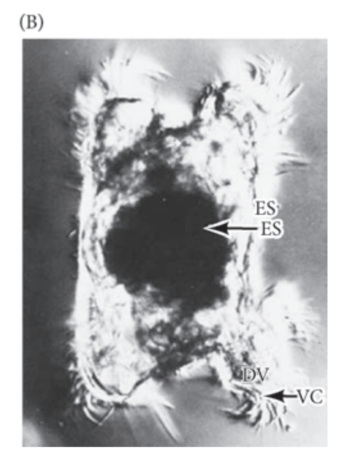


图 8.10　东泥织纹螺发育过程中极叶的重要作用。(A) 正常的担轮幼体。(B) 去除 D 卵裂球后所产生的典型异常幼体。E，眼；F，足；S，壳；ST，平衡泡；V，罩膜；VC，罩膜纤毛；Y，残留卵黄；ES，外翻的口道；DV，紊乱的罩膜（来自 Newrock and Raff 1975，图由 K. Newrock 提供）。

观察发育 8.3　这一视频显示一个非软体类冠轮动物，即环节动物类毛翼虫（*Chaetopterus*）中极叶的发育。

经过离心后研究发现，被隔离在极叶中的形态发生决定物可能定位于极叶的细胞骨架或者皮质，而不是扩散在细胞质中（Clement 1968）。Van den Biggelaar（1977）用微量移液器将细胞质从极叶中去除后得到了类似的结果。细胞中其他区域的细胞质流入极叶，替代了被他去掉的部分，这样的胚胎能正常发育。此外，如果将扩散的极叶细胞质置入 B 卵裂球，胚胎便不能形成重复的结构（Verdonk and Cather 1983）。因此，极叶细胞质中扩散的部分并不含有形态发生决定物；这些尚未被鉴别出来的因子可能定位在非流动性的皮质细胞质或者细胞骨架。

D 卵裂球　D 卵裂球的发育可以在图 8.3B ～ D 中予以追踪。在接纳了来自极叶的内容物之后，这一大分裂球的体积变得比其他三个卵裂球要大（Clement 1962）。如果去除 D 卵裂球或者它的第一或第二个衍生卵裂球（即 1D 或 2D），这样得到的幼体将会缺少心脏、肠、罩膜、壳腺、眼和足。这一表型与去除极叶后得到的表型基本一致（见图 8.10B）。由于 D 卵裂球不直接形成大多数这些结构，因此，D 象限的大分裂球似乎参与诱导其他细胞来获得这些命运。

如果在 2D 细胞分裂成 3D 和 3d 卵裂球后不久将 3D 卵裂球去除，这样得到的幼体看上去与去掉 D、1D 或者 2D 卵裂球的幼体相似。然而，如果在稍后时期去除 3D 卵裂球，这样得到的幼体几乎正常，具有眼、足、罩膜及部分壳腺，但没有心脏或肠。在 4d 细胞产生之后（由 3D 卵裂球分裂产生），去除 D 衍生细胞（4D 细胞）对发育不会造成本质上的影响。事实上，心脏和肠的所有重要决定物都定位在 4d 卵裂球（如前所述，这个细胞也称为成中内胚层细胞），去除这个细胞将形成没有心脏和肠的幼体（Clement 1986）。在下次分裂时，4d 卵裂球参与形成两个两侧成对的卵裂球，这两个卵裂球分化形成中胚层（心脏）和内胚层（肠）器官（Lyons et al. 2012；Lambert and Chan，2014）。

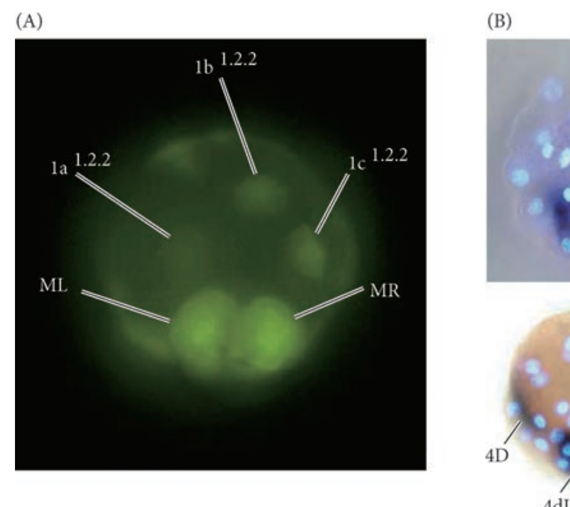
因此，3D 大分裂球中的中胚层和内胚层决定物被传递到 4d 卵裂球。至少有两个形态发生决定物参

[1] 尽管这似乎是自主性特化的一个突出事例，但是，为了激活由极叶传输至 D 卵裂球的细胞质决定物，有可能还需要来自小分裂球的信号（Gharbiah et al. 2014；Henry 2014）。除了这些在细胞分化过程中的功能以外，极叶中的物质还参与特化胚胎的背 - 腹极性。当极叶中的物质被迫进入 AB 及 CD 卵裂球时，这样就会形成腹侧表面相连的孪生幼体（Guerrier et al. 1978；Henry and Martindale 1987）。

与调节 4d 的发育。首先，转录因子 **β- 联蛋白**（**β-catenin**）能特化这一细胞，它进入 4d 中内胚层细胞及其直接的子代细胞的细胞核（图 8.11A；Henry et al. 2008；Rabinowitz et al. 2008）。使用一些翻译抑制物阻断 β- 联蛋白的合成时，4d 细胞可以进行正常图式的早期分裂，但不能分化成心脏、肌肉或者后肠，并且在这些胚胎中无法进行原肠胚形成（Henry et al. 2010b）。的确，β- 联蛋白在调节自主性特化，以及在中内胚层命运特化方面的功能可能在整个动物界都是保守的。在后续的几章中，我们将看到这一蛋白质在海胆及蛙胚胎中行使相似的功能。

其次，在 4d 卵裂球中也有翻译抑制因子 Nanos 的蛋白质和 mRNA（图 8.11B）。类似于 β- 联蛋白，阻断 Nanos 的 mRNA 的翻译可以抑制 4d 卵裂球形成幼体的肌肉、心脏和肠（Rabinowitz et al. 2008）。此外，生殖细胞（精子和卵的祖细胞）也无法形成。我们在整本书中都会看到，Nanos 是一个参与特化生殖祖细胞的蛋白质。

(A)



(B)

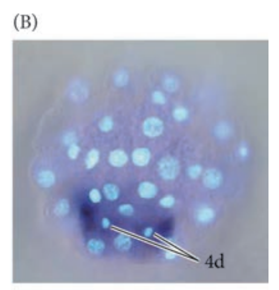




图 8.11 蜗牛胚胎 4d 卵裂球中的形态发生决定物。(A) 履螺（*Crepidula*）4d 卵裂球的后代细胞 ML 和 MR 中 β- 联蛋白的表达。(B) 在东泥织纹螺的胚胎中，Nanos 的 mRNA（紫色）在分裂中的 4d 卵裂球及其左右两个子代细胞 4dL 和 4dR 中的定位（A 图来自 Henry et al. 2010；B 图来自 Rabinowitz et al. 2008）。

但是，4d 细胞不仅仅进行自主性发育，它也能诱导其他细胞谱系。Notch 信号途径可能对 4d 细胞的诱导事件有关键的作用。在 4d 细胞形成之后阻断 Notch 信号途径，这样发育的幼体与去除 4d 细胞的幼体相似，然而，4d 细胞的自主命运（如幼体的肾）未受干扰（Gharbiah et al. 2014）。因此，D 系列的卵裂球是蜗牛胚胎的“组织者”。实验证明，基于下列几个原因，位于 D 卵裂球中非扩散性的极叶（皮质）细胞质对于软体动物的正常发育具有极其重要的作用。

- 它含有 D 卵裂球中正确的分裂节律和分裂方向的决定物。
- 它含有一些使中胚层及肠自主性分化的决定物（那些进入 4d 卵裂球和变为成中内胚层细胞的决定物）。
- 它参与诱导性相互作用（通过进入 3D 卵裂球的物质），促使壳腺和眼的形成。

8.3.4 改变卵裂图式而改变进化：来自一个双壳类软体动物的例子

达尔文的进化论认为生物多样性是传代过程中发生变异而产生的。这一阐释整合并解释了形式上的共性（例如，人的手臂和海豹鳍的相同骨骼类型）演化自一个共同祖先。它也解释了自然选择如何产生一些变异，使一个生物体在其特定的生活环境中更好地生存。我们在蜗牛的发育中都可以看到这些原则。如上所述，E. B. Wilson 证明蜗牛、环节动物、扁虫都具有螺旋卵裂，而胚胎细胞具有相似功能的最佳解释是这些类群的动物都进化自一个共同祖先。

在同一年，胚胎学家 Frank R. Lillie 证明，改变发育图式可以演化出一个新的结构。由此他得出结论，胚胎发育中的遗传变异导致了进化。Lillie 在 1898 年发现了这样一个变异：蚌蛤是珠蚌科双壳类软体动物的成员，软体动物典型的螺旋卵裂图式在这些蚌蛤胚胎中发生了改变，从而导致了发育的变化。

与大多数蛤类不同，珠蚌及其近亲生活在湍急的溪流中。水流会引起幼体扩散的问题：因为成体是静止生活的，而自由游动的幼体随波逐流。珠蚌为此发生了两种发育的变化以适应这一环境。首要的一种是胚胎卵裂的变化。在典型的软体动物的卵裂过程中，或者所有大分裂球的大小都一致，或者 2D 大分裂球在相应的胚胎时期是最大的细胞。然而，珠蚌胚胎的卵裂使 2d 这个"小分裂球"获得了最大量的细胞质（图 8.12）。然后，这一细胞进行分裂产生大部分的幼体结构，包括一个能够产生大壳的腺体。这样的幼体被称为**钩介幼体**（**glochidium**），像一个微型的捕熊夹。钩介幼体具有敏感的毛，当这些毛被鱼的鳃或鳍触碰时，它们能使壳迅速闭合。因此，幼体可以将它们附着在鱼的身上"搭便车旅行"，直到它们准备脱落，然后经过变态长成成体。利用这种方式，它们既可以散布到上游，也可以散布到下游的河流。

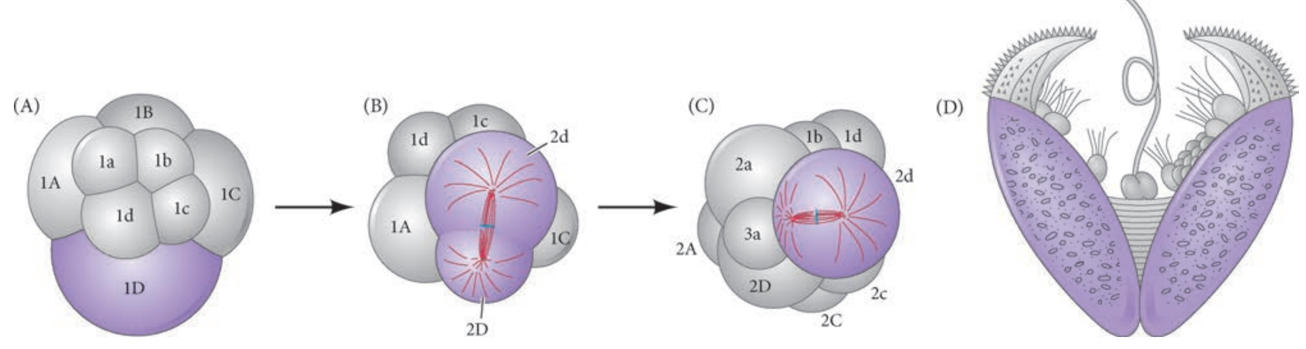


图 8.12　改变螺旋式卵裂而形成钩介幼体。8 细胞胚胎形成后（A），有丝分裂纺锤体的定位导致 D 卵裂球的大部分细胞质进入 2d 卵裂球（B）。这一大的 2d 卵裂球继续分裂（C），最终形成幼体的大"捕熊夹"样的壳（D）（参考 Raff and Kaufman 1983）。

有些珠蚌物种的钩介幼体从雌性的孵育囊（卵袋）中被释放出来后被动地等待游到附近的鱼。还有一些物种，如美丽蚌属的珠蚌（*Lampsilis altilis*），通过另外一种发育的变化使其幼体增加与鱼相遇的机会。许多蚌发育出一个薄的外套膜，围绕壳摆动并环围孵育囊。在一些珠蚌中，孵育囊的形状及外套膜的摆动模拟一种小鱼的形态和游动行为（Welsh 1969）。为了达到更好的欺骗效果，这些蚌甚至在一端生长出一个黑色的"眼点"，而在另一端长出呈喇叭状展开的"尾"（图 8.13）。当一条捕食性的鱼被引诱到这一"猎物"的范围内之后，蚌便从其孵育囊中释放出钩介幼体，使其附着在鱼鳃上。因此，发育图式的改变可以使珠蚌的幼体在具有挑战性的环境中生存。



图 8.13　珠蚌（*Lampsilis altilis*）上面的假鱼（phony fish）。这条"鱼"实际上是蚌的孵育囊和外套膜。"眼"和喇叭状"尾"吸引捕食性鱼类，而后钩介幼体附着在鱼鳃上（由 Wendell R. Haag/USDA Forest Service 提供）。

8.4　蜗牛的原肠胚形成

蜗牛的实囊胚相对较小，而且其细胞命运已被 D 系列的大分裂球所决定。原肠胚形成是一系列过程的组合，包括内胚层的内陷以形成原始肠，以及动物帽小分裂球通过增殖和"长满"植物极大分裂球而进行外包（Collier 1997；van den Biggelaar and Dictus 2004；Lyons and Henry 2014）。最终，小分裂球包裹

整个胚胎，在植物极仅存一个胚孔的狭缝（图 8.14A）。第一到第三个 4 细胞组的小分裂球形成一个上皮性的动物帽，通过延伸而包裹植物极的中内胚层前体细胞。当胚孔不断变窄时，来自 $3a^2$ 和 $3b^2$ 的细胞发生上皮到间充质转换，并移动至原肠腔。在胚胎后部，来自 $3c^2$ 和 $3d^2$ 的细胞进行集中和延伸运动，这些运动涉及细胞的拉链式紧扣作用，以及跨越腹部中线的细胞间嵌插作用（图 8.14B；Lyons et al. 2015）。

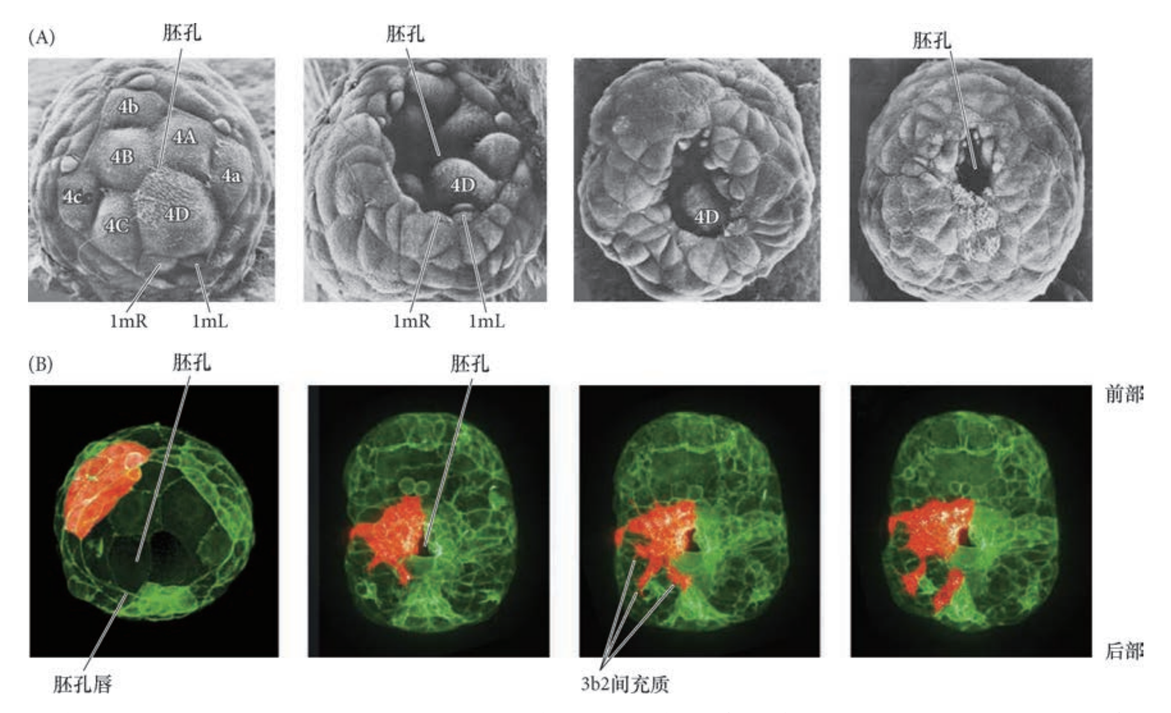


图 8.14 履螺属（*Crepidula*）蜗牛的原肠胚形成。(A) 聚焦于胚孔区域的扫描电镜图显示内胚层的内化。内胚层来源于大分裂球及第四层位的小分裂球。这时 4d 细胞已经分裂成 1mR 和 1mL 细胞（分别是右和左中内胚层细胞）。外胚层从动物极开始进行外包运动，包裹胚胎的其他细胞。(B) 对履螺属胚胎进行活细胞标记显示胚胎通过外包运动进行原肠胚形成。来自 3d 小分裂球的细胞被标记成红色（A 图来自 Van den Biggelaar and Dictus 2004；B 图来自 Lyons et al. 2015，由 D. Lyons 提供）。

在蜗牛的原肠胚形成期间，口由环绕胚孔周围的细胞形成，而肛门源于 $2d^2$ 细胞，它们组成了胚孔唇的极小部分。肛门作为一个与胚孔不相关的独立开口形成于受精后的第 12 天。这些动物的口形成于胚孔最先出现的区域，因此，它们是原口动物。

观察发育 8.4 Deirdre Lyons 博士实验室的两段视频显示蜗牛小分裂球的外包以及大分裂球的内化。

8.5 秀丽隐杆线虫

与具有长期胚胎学背景的蜗牛不同，秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*，通常被称为 *C. elegans*）是一个将发育生物学和分子遗传学结合起来的现代模式体系。在 20 世纪 70 年代，Sydney Brenner 及其学生试图寻找一种生物用来鉴别参与发育的每个基因和追踪每个细胞的谱系（Brenner 1974）。线虫类蠕虫似乎是一个很好的候选生物，因为 Richard Goldschmidt 和 Theodor Boveri 等胚胎学家已经证明，有几种线虫具有相对较少的染色体数目和少量具有恒定细胞谱系的细胞。

Brenner 及其同事最终决定利用秀丽隐杆线虫，这是一种个体小（1 mm 长）、细胞类型相对较少的自由生活（即非寄生性的）土壤线虫。秀丽隐杆线虫具有大约 16 h 的快速胚胎发育期，并且可以在培养皿中完成发育（图 8.15A）。不仅如此，其主要的成体形式为雌雄同体，既能产生卵子，也能产生精子。它

们可以通过自体受精进行繁殖，也可以与较少见的雄性交配，通过异体受精而进行繁殖。

在秀丽隐杆线虫中，一个雌雄同体的成熟个体具有精确的 959 个体细胞。通过其透明的外皮，人们已经获得了完整的细胞谱系（**图 8.15B**；Sulston and Horvitz 1977；Kimble and Hirsh 1979）。秀丽隐杆线虫具有所谓的**恒定细胞谱系**（**invariant cell lineage**），这意味着在所有的胚胎中，每个细胞所产生的细胞数量和类型都是相同的。这能使人们了解哪些细胞具有相同的祖细胞。因此，对于每个胚胎中的细胞，我们都可以知道它来自哪里（也就是在早期胚胎中哪个细胞是它的祖细胞），以及将来形成哪种组织。此外，与脊椎动物的细胞谱系不同，秀丽隐杆线虫的谱系从一个个体到另一个个体几乎完全不变，几乎没有随机性（Sulston et al. 1983）。它也具有一个很紧致的基因组。秀丽隐杆线虫的基因组是第一个从多细胞生物体中获得的完整序列（*C. elegans* Sequencing Consortium 1999）。尽管它的基因数量与人类大致相同（线虫

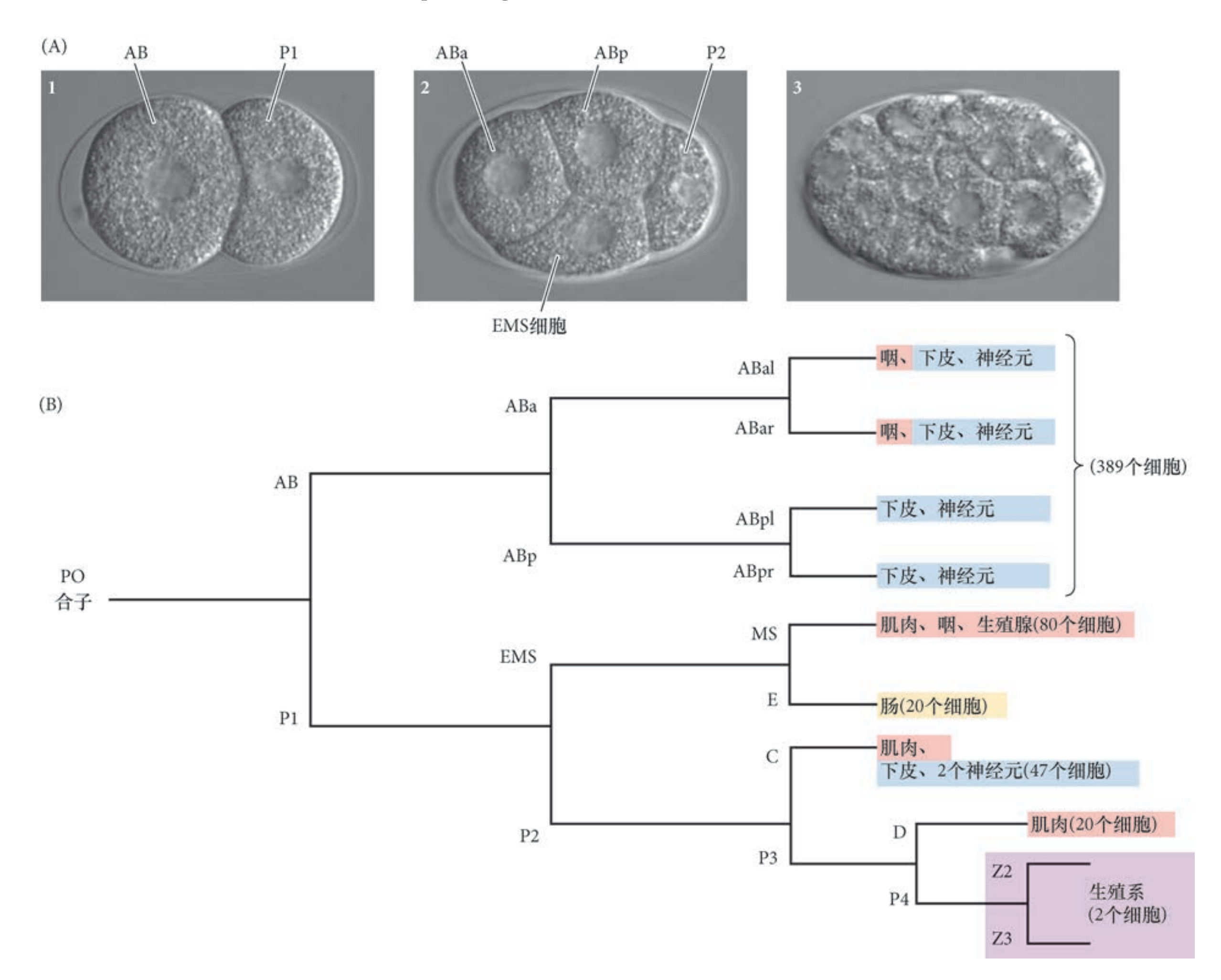


图 8.15　秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*）的发育速度快，产生一个具有 959 个体细胞的成体。单个细胞谱系在动物的整个发育过程都被予以追踪。（A）卵裂期胚胎的相差显微镜照片。（1）AB 细胞（左）和 P1 细胞（右）来自第一次不对称分裂。（2）4 细胞期胚胎显示 ABa、ABp、P2 和 EMS 细胞。（3）原肠胚形成由 E 来源的细胞向胚胎的中心运动而起始。（B）简略细胞谱系图。生殖系分离到最后端细胞（P）的后部分。最初的三次细胞分裂产生 AB、C、MS 和 E 谱系。括号内的细胞数代表新孵化幼体中的 558 个细胞。其中一些细胞继续分裂以产生成体的 959 个细胞（A 图由 D. G. Morton 和 K. Kemphues 提供；B 图参考 Pines 1992，根据 Sulston and Horvitz 1977 和 Sulston et al. 1983）。

拓展性问题

人类具有几万亿个细胞、一个区域化的脑和复杂的四肢。线虫有 959 个细胞，可以被容纳在指甲下面。然而，人类和线虫所拥有的基因数基本相同，这使线虫基因组图谱的监管者 Jonathan Hodgkins 不禁要问“为什么一条蠕虫需要 20 000 个基因”？你有什么建议吗？

有 18 000 ～ 20 000 个基因，人类有 20 000 ～ 25 000 个基因），但线虫基因组中碱基的数量大约仅是人类的 3%（Hodgkin 1998，2001）。

秀丽隐杆线虫具备几乎所有主要躯体结构体系的原基（摄食、神经、繁殖等，尽管它不具有骨骼），并且它在死亡之前显现出衰老的表型。神经生物学家因为秀丽隐杆线虫仅有一个极小的神经系统（302 个神经元）而感到振奋，并且所有 7600 个突触（神经元的连接结构）都被已被鉴别出来（White et al. 1986；Seifert et al. 2006）。此外，秀丽隐杆线虫对分子生物学家尤为方便。注射进线虫细胞的 DNA 很容易与细胞核整合，而且线虫可以从其培养基中摄取反义 RNA。

8.6 秀丽隐杆线虫的卵裂和体轴形成

秀丽隐杆线虫的受精并不是典型的精卵相遇的故事。大部分秀丽隐杆线虫个体为雌雄同体，能同时产生精子和卵子，因此在同一个成体内便可发生受精。当卵子滚动经过含有成熟精子的储精囊时就会被受精（**图 8.16A，B**）。精子并不是典型的长尾和流线型细胞，而是小、圆和无鞭毛的细胞，它们以变形虫状的运动缓慢行进。当精子与卵细胞膜融合时，新形成的受精卵迅速合成几丁质（组成外皮的蛋白质）以防止多精入卵（Johnston et al. 2010）。而后，受精卵进行早期卵裂，从阴门排出。

观察发育 8.5 这是一些精彩的秀丽隐杆线虫胚胎发育视频，其中一部分为 Bob Goldstein 博士的实验室所制备。

8.6.1 旋转卵裂

秀丽隐杆线虫的合子呈现旋转完全卵裂（**图 8.16C**）。在早期卵裂过程中，每一次不对称分裂都产生一个生成细胞（标记为 AB、E、MS、C 和 D）和一个干细胞（P1 ～ P4 谱系），生成细胞能产生分化的子

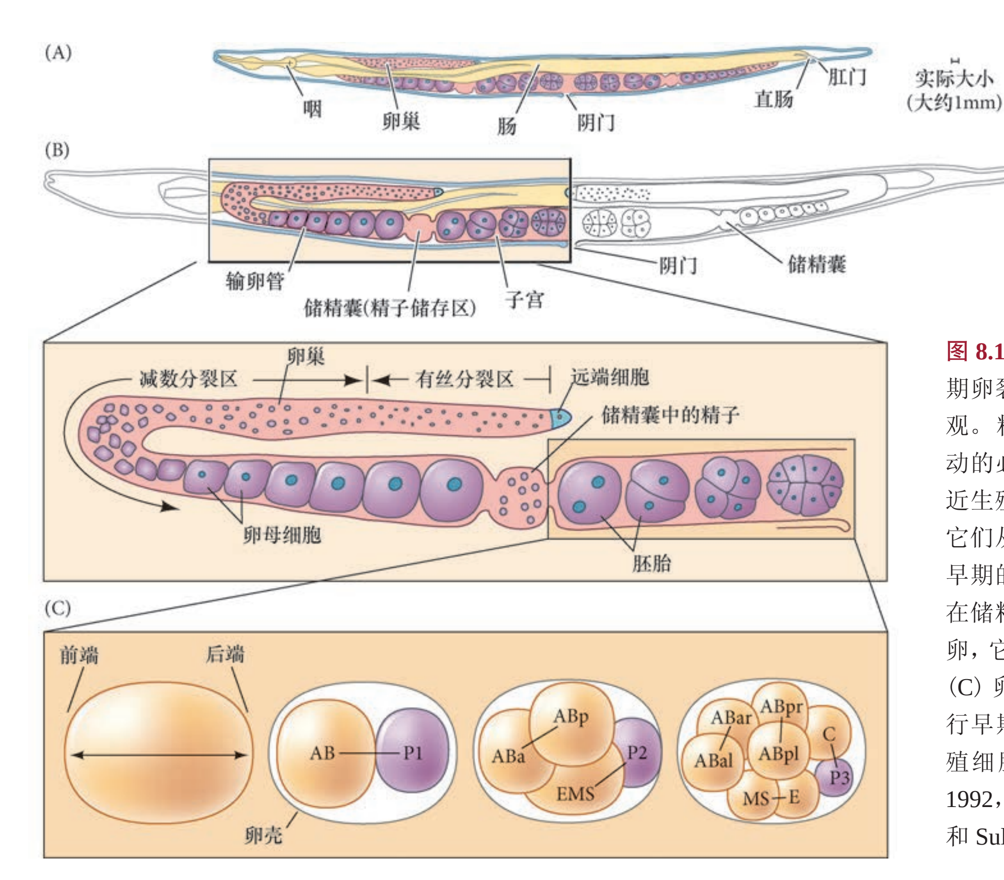
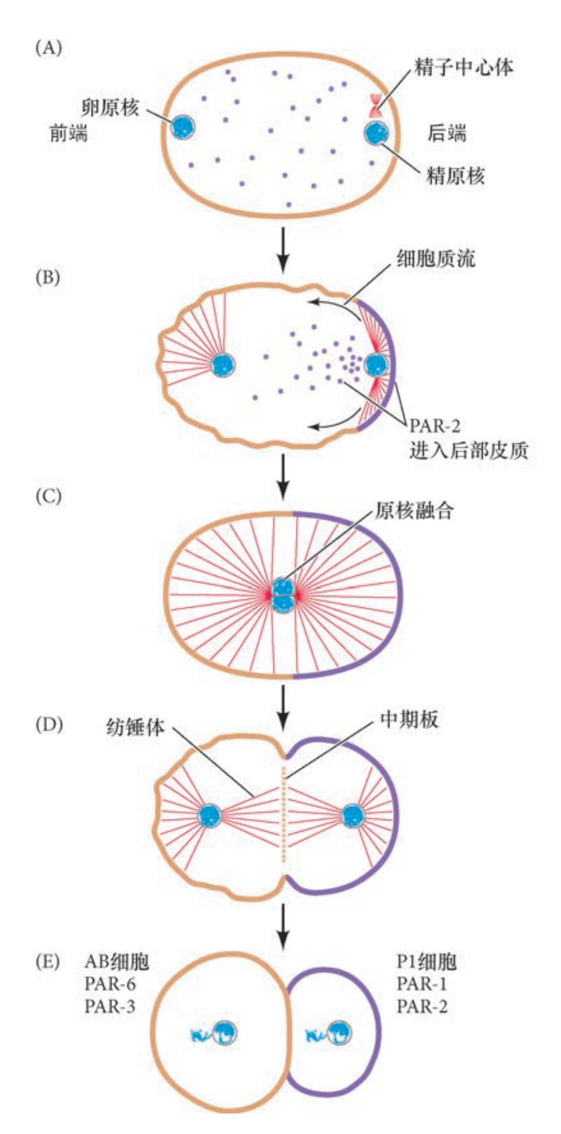


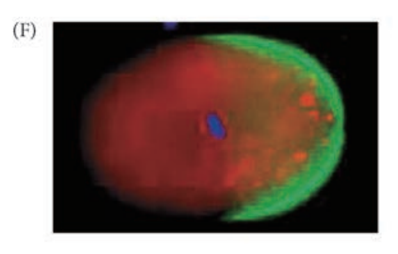
图 8.16 秀丽隐杆线虫的受精和早期卵裂。（A）雌雄同体成虫的侧面观。精子储存在成熟卵向阴门运动的必经之路。（B）生殖细胞在靠近生殖腺的远端进行有丝分裂。当它们从远端离开时进入减数分裂。早期的减数分裂形成精子，并储存在储精囊中。晚期的减数分裂形成卵，它们滚动经过储精囊时被受精。（C）卵在受精后向阴门移动，进行早期发育。P 谱系由最终形成生殖细胞的干细胞组成（参考 Pines 1992，根据 Sulston and Horvitz 1977 和 Sulston et al. 1983）。

代细胞。前 - 后轴在第一次卵裂之前就已经被决定。卵裂沟以不对称的方式沿着卵的这一轴向形成，靠近将来成为后极的位置。第一次卵裂形成一个前部的生成细胞（AB）和一个后部的干细胞（P1）。背 - 腹轴由第二次卵裂决定。生成细胞（AB）沿赤道面（纵向，与前 - 后轴成 90° 角）分裂，而 P1 细胞沿子午面（横向）分裂，产生另一个生成细胞（EMS）和一个后部干细胞（P2）。EMS 标志发育中胚胎的腹部。干细胞谱系总是沿子午面分裂，以产生一个前部的生成细胞和一个维持干细胞谱系的后部细胞。在 4 细胞期到 8 细胞转换时，可以观察到左 - 右轴。在这里，AB 细胞的两个“孙代”细胞（ABal 和 ABpl）在左侧，而另外两个（ABar 和 ABpr）在右侧（见图 8.16C）。

8.6.2　前 - 后轴的形成

卵的哪一端将成为前部、哪一端将成为后部似乎取决于精原核的位置（图 8.17）。当精原核进入卵母细胞的细胞质时，卵母细胞并不具备极性。然而，在卵母细胞的细胞质中，一些**分隔缺陷蛋白**（“**partitioning-defective**”或 **PAR protein**[2]）却具有特定的空间分布（Motegi and Seydoux 2014）。PAR-3





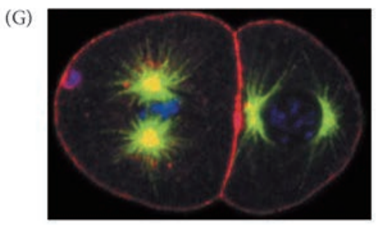


图 8.17　分隔缺陷（PAR）蛋白和极性的建立。（A）精子入卵后，卵细胞核进行减数分裂（左）。皮质细胞质（橙色）含有 PAR-3、PAR-6 和蛋白激酶 -3，内部细胞质含有 PAR-2 和 PAR-1（紫色圆点）。（B，C）精子中心体的微管启动肌动蛋白组成的细胞骨架向胚胎的未来前端收缩。这些精子微管也保护 PAR-2 蛋白不被磷酸化，使它能够与其结合蛋白 PAR-1 一起进入皮质。PAR-1 使 PAR-3 磷酸化后，PAR-3 及其结合蛋白 PAR-6 和蛋白激酶 -3 一起脱离皮质。（D）细胞的后部由 PAR-2 和 PAR-1 决定，而前部由 PAR-6 和 PAR-3 决定。因为微管更靠近后极，因而在分裂中期，中期板并不不对称。（E）中期板将合子一分为二，一部分具有前端的 PAR 蛋白，另一部分具有后端的 PAR 蛋白。（F）在这个正在卵裂的秀丽隐杆线虫的合子中，PAR-2 蛋白被染成绿色，DNA 被染成蓝色。（G）在第二次卵裂时，AB 细胞和 P1 细胞的分裂面互相垂直（彼此呈 90° 角）（A ～ E 图参考 Bastock and St. Johnston 2011；F 图的照片由 J. Ahrenger 提供；G 图的照片由 J. White 提供）。

[2] 尽管 PAR 蛋白最先发现于秀丽隐杆线虫，许多其他动物也利用 PAR 蛋白建立细胞极性。在果蝇（*Drosophila*），它们对卵母细胞前部和后部区域的形成起至关重要的作用，并且参与区分果蝇上皮细胞的基端和顶端。果蝇中 PAR 蛋白的重要作用还表现在它们决定神经干细胞分裂后的子细胞中哪一个成为神经元，哪一个仍然是神经干细胞。在哺乳动物，PAR-1 的同源蛋白对神经细胞的极性也起关键作用（Goldstein and Macara 2007；Nance and Zallen 2011）。

和 PAR-6 与蛋白激酶 -3（其突变导致分隔缺陷）相互作用，它们均匀地分布在皮质细胞质。蛋白激酶 -3 使 PAR-1 和 PAR-2 磷酸化而将它们限制在内部的细胞质。精子的中心体（微管组织中心）通过其微管与皮质细胞质接触而起始细胞质的运动，将雄原核推向椭圆形卵母细胞的最近端。这一端将成为后极（Goldstein and Hird 1996）。不仅如此，这些微管区域性地保护 PAR-2，使其不被磷酸化，从而使 PAR-2（及其结合蛋白 PAR-1）进入最靠近中心体的皮质。一旦 PAR-1 定位于皮质细胞质，它使 PAR-3 磷酸化，导致 PAR-3（及其相结合的蛋白激酶 -3）离开皮质。同时，精子微管诱导肌动蛋白 - 肌球蛋白组成的细胞骨架向前部收缩，进而将 PAR-3、PAR-6 和蛋白激酶 -3 从 1 细胞期胚胎的后部去除。在第一次卵裂期间，中期板更靠近后部，受精卵分裂成两个细胞，一个含有前部 PAR 蛋白 PAR-6 和 PAR-3，另一个则含有后部 PAR 蛋白 PAR-2 和 PAR-1（Goehring et al. 2011；Motegi et al. 2011；Rose and Gönczy 2014）。

科学家讲座 8.1 Michael Barresi 对话 Kenneth Kemphues 博士，后者讲述他关于 *PAR* 基因和 RNA 干扰（RNAi）的研究工作。

8.6.3 背 - 腹和左 - 右轴的形成

秀丽隐杆线虫的背 - 腹轴是在 AB 细胞的分裂中建立的。在分裂时，这个细胞的长度变得比卵壳的宽度还要大，这种情形造成的挤压导致子细胞滑动，一个靠近前端，另一个靠近后端（因此它们分别被称为 ABa 和 ABp 细胞，见图 8.16C；“a”是英文“anterior”，即“前部”的首字母，而“p”是英文“posterior”，即“后部”的首字母——译者注）。这种挤压也导致 ABp 细胞处于 P1 卵裂球分裂形成的 EMS 细胞上方的位置。因此，ABp 细胞标志胚胎的未来背部，而 EMS 细胞（即肌肉和肠细胞的前体）则是胚胎未来腹部的标志。

左 - 右轴在 12 细胞期之前并不明显。这时，MS 卵裂球（从 EMS 细胞分裂而来）与 ABa 细胞的一半“孙女”相接触，将躯体的左右两侧区分开来（Evans et al. 1994）。这一不对称的信号为其他一些区分幼体左右两侧的诱导事件做好了准备（Hutter and Schnabel 1995）。的确，位于线虫脑左右两侧的各种神经元的命运都可以追溯到 12 细胞期发生的这种变化（Poole and Hobert 2006）。尽管在 12 细胞期可以很容易地观察到左右不对称，然而左右不对称的第一个标示可能出现在合子期。在第一次卵裂之前，胚胎在卵黄被内部旋转 120°。相对于已经建立的前 - 后轴，胚胎总是向同一方向旋转，这表明胚胎已经具有左右不对称性。如果细胞骨架蛋白或者 PAR 蛋白受到抑制，那么旋转的方向及随后的手性就会变成随机的事件（Wood and Schonegg 2005；Pohl 2011）。

8.6.4 卵裂球特征的控制

秀丽隐杆线虫同时表现出条件性和自主性的细胞特化。如果将最早两个卵裂球用实验方法分开，就都可以观察到这两种特化方式（Priess and Thomson 1987）。在没有 AB 细胞的情况下，P1 细胞能够自主发育，产生它在正常情况下所产生的所有细胞，结果是形成了胚胎的后半部分。然而，分离的 AB 细胞仅能产生它在正常情况下所能产生的那些细胞的很小一部分。例如，通过分裂产生的 ABa 细胞就无法形成它在正常胚胎中应该形成的咽部肌肉。因此，AB 卵裂球的特化是条件性的，它需要与 P1 的后代细胞相互作用才能正常发育。

自主性特化 P1 谱系的决定似乎是自主性的，细胞的命运受内部细胞质中的一些因子决定，而不是通过与相邻细胞的相互作用而被决定（见 Maduro 2006）。P1 细胞产生 4 个生成细胞（MS、E、C 和 D 细胞），SKN-1、PAL-1 和 PIE-1 等内源转录因子决定了这 4 个细胞所产生的那些细胞的命运。

SKN-1 蛋白是母体表达的转录因子，它控制产生咽后部细胞的 EMS 卵裂球的命运。在第一次卵裂之后，只有后部的卵裂球，也就是 P1 卵裂球，具有在分离的情况下产生咽部细胞的能力。在 P1 分裂之后，

只有 EMS 能够在分离的情况下产生咽部肌肉细胞（Priess and Thomson 1987）。类似地，EMS 细胞分裂后，其子代细胞中只有一个细胞，即 MS 细胞，具有产生咽部组织的内在能力。这些发现暗示，咽部细胞的命运可能是由细胞质中的母体因子决定的，它们在分裂过程中被分配到这些特定的细胞。

Bowerman 及其同事（1992a，b，1993）发现了没有咽部细胞的母体效应突变体，并且在 *skn-1*（*skin excess*，即皮肤过多）基因中分离到一个突变。来自 *skn-1* 纯合突变体母本的胚胎没有源自 EMS 的咽中胚层和内胚层衍生组织（**图 8.18**）。这些胚胎似乎在应该形成肠和咽的部位形成了额外的皮下（皮肤）和体壁组织，而没有形成正常的肠和咽部结构。换句话说，EMS 细胞似乎被特化成 C 细胞。只有注定形成咽或肠的细胞才会受到这一突变的影响。SKN-1 是一个转录因子，参与启动形成咽和肠的一些基因的激活（Blackwell et al. 1994；Maduro et al. 2001）。

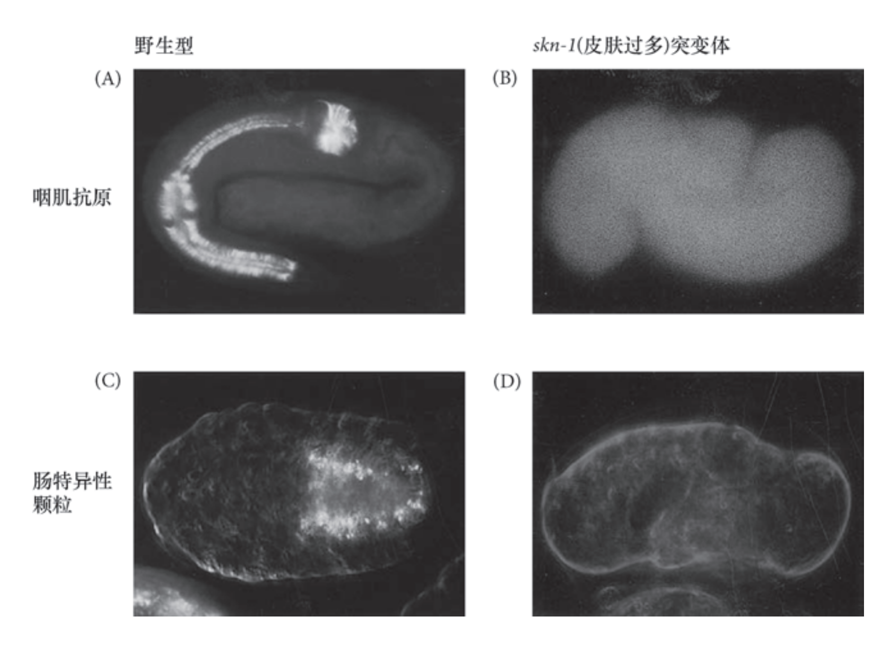


图 8.18　秀丽隐杆线虫的 *skn-1* 突变体中缺失肠和咽。在野生型胚胎（A，C）和 *skn-1* 纯合突变体胚胎（B，D）中检测咽肌（A，B）和肠特异性颗粒（C，D）。一个咽肌特异性抗体能标记野生型胚胎中的咽部肌肉组织（A），但不能标记 *skn-1* 突变体胚胎中的任何组织结构（B）。类似地，（C）代表胚胎肠特征的肠颗粒在（D）*skn-1* 突变体胚胎的肠中缺失（来自 Bowerman et al.1992a，图由 B. Bowerman 提供）。

另一个转录因子 **PAL-1** 参与 P1 谱系的分化。PAL-1 的活性对 P2 卵裂球的体细胞（而非生殖系细胞）后代的正常发育是必要的，而 P2 卵裂球特化肌肉的形成。缺少 PAL-1 的胚胎没有源自 C 和 D 干细胞的体细胞类型（Hunter and Kenyon 1996）。PAL-1 受 MEX-3 蛋白的调节，后者是一个 RNA 结合蛋白，对 *pal-1* 的翻译具有抑制作用。在任何表达 MEX-3 的位置，PAL-1 就会缺失。因此，在缺失 *mex-3* 的突变体中，每个卵裂球都会表达 PAL-1。SKN-1 也可以抑制 PAL-1（由此在 EMS 细胞中阻止其活性）。然而，是什么在未来的生殖细胞中抑制 *pal-1* 的活性，防止它们变成肌肉细胞？在生殖系中，PUF-8 蛋白与 *pal-1* 的 mRNA 的 3′ 端非翻译区（UTR）相结合，从而阻止 PAL-1 的合成（Mainpal et al. 2011）。

第三个转录因子 PIE-1 对生殖细胞的命运是必要的。**PIE-1** 在 PAR-1 蛋白的作用下被置入 P 卵裂球（**图 8.19**），而且它可以在 P2 及随后的生殖系细胞中抑制 SKN-1 和 PAL-1 的功能（Hunter and Kenyon 1996）。母体 *pie-1* 基因的突变导致生殖系卵裂球获得体细胞的命运，使得 P2 细胞具有与野生型 EMS 卵裂球相似的行为。PIE-1 的定位及其遗传学特性暗示它

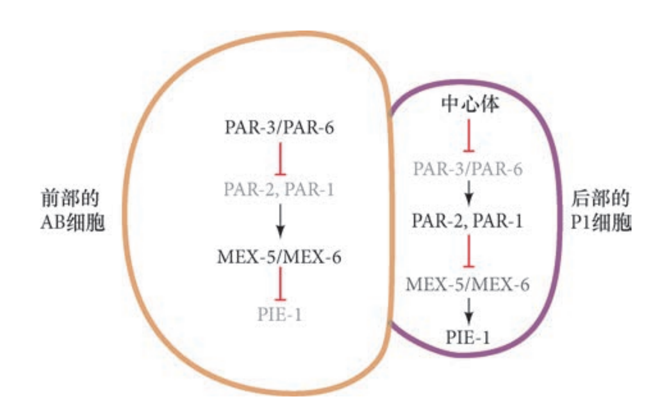


图 8.19　PIE-1 决定物在 2 细胞期被分隔至 P1 卵裂球。精子中心体在卵的后部抑制 PAR-3/PAR-6 复合体的形成。这使 PAR-2 和 PAR-1 发挥功能，进而抑制可以降解 PIE-1 的 MEX-5 和 MEX-6 蛋白。所以，PIE-1 在前部的 AB 细胞中被降解，但在 P1 细胞中得以保存（参考 Gönczy and Rose 2005）。

抑制体细胞命运的建立，并维持生殖细胞谱系的全能性（Mello et al. 1996；Seydoux et al. 1996）。

条件性特化 像前面提到的那样，秀丽隐杆线虫利用自主性和条件性两种方式进行细胞特化。在内胚层细胞谱系的发育中可见到条件性特化。在 4 细胞期，EMS 细胞需要来自邻近（也是姊妹）的细胞，即 P2 卵裂球的信号。通常，EMS 细胞分裂成一个 MS 细胞（产生中胚层的肌细胞）和一个 E 细胞（产生肠内胚层）。如果在 4 细胞期的早期去除 P2 细胞，那么 EMS 细胞将分裂成两个 MS 细胞，因此不会产生内胚层。然而，将 EMS 细胞与 P2 卵裂球重新组合在一起后就会形成内胚层。但是，如果与 ABa、ABp 分别组合或与这两个 AB 的衍生细胞共同组合在一起，就不会有内胚层的形成（Goldstein 1992）。MS 细胞的特化起始于母体的 SKN-1 对一些转录因子基因的激活，如 MED-1 和 MED-2。POP-1 信号（编码结合 β- 联蛋白到 DNA 的 TCF 蛋白）通过阻断 MED-1 和 MED-2 对 *tbx35* 基因的激活能力而阻断未来 MS 细胞中 E 细胞（内胚层）命运的途径，使这些细胞变成 MS 细胞（图 8.20；Broitman-Maduro et al. 2006；Maduro 2009）。在整个动物界，TBX 蛋白在中胚层的形成过程中都具有重要作用。TBX-35 在线虫的咽和肌肉中分别激活中胚层基因 *pha-4* 和 *hlh-1*。

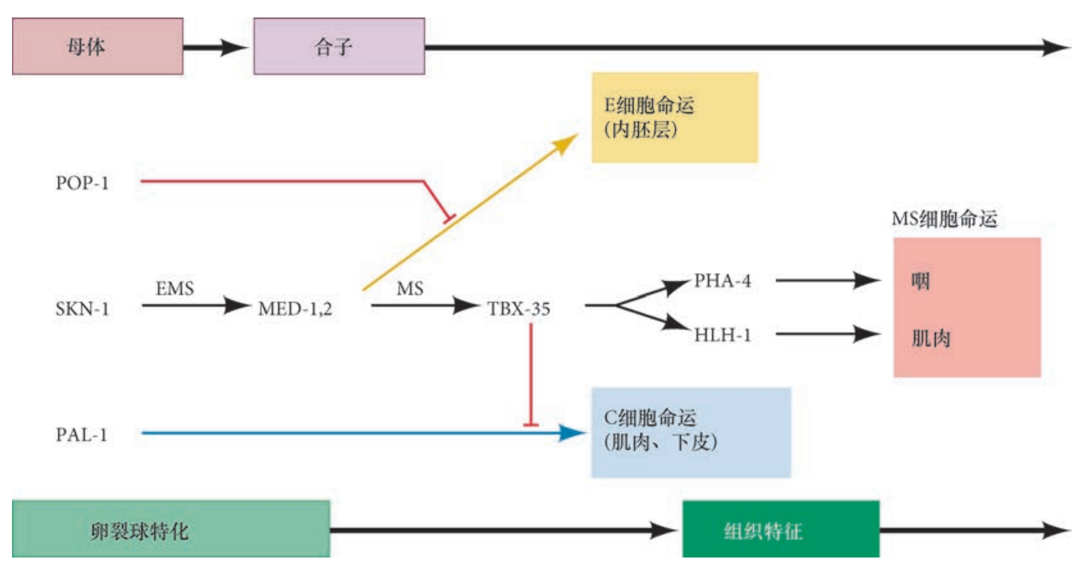


图 8.20 MS 卵裂球特化的模式图。在 EMS 细胞中，母体的 SKN-1 激活 GATA 家族转录因子 MED-1 和 MED-2。POP-1 信号抑制这些蛋白质，使它们不能激活一些内胚层的转录因子（比如 END-1），因此只能激活 *tbx-35*。转录因子 TBX-35 在 MS 细胞中激活中胚层基因，包括咽谱系的 *pha-4* 基因，以及肌肉中的 *hlh-1*（编码一个肌源性转录因子）。TBX-35 同时也抑制 *pal-1* 基因的表达，由此抑制 MS 细胞获得 C 卵裂球的命运（参考 Broitman-Maduro et al. 2006）。

P2 细胞产生一个与 EMS 细胞相互作用的信号，指令与之相邻的一个 EMS 子细胞变成 E 细胞。这一信息是由 Wnt 信号转导级联传递的（图 8.21；Rocheleau et al. 1997；Thorpe et al. 1997；Walston et al. 2004）。P2 细胞产生 MOM-2——一个线虫的 Wnt 蛋白。MOM-2 信号在 EMS 细胞中被 MOM-5 接收，这是一个线虫版的 Wnt 受体蛋白 Frizzled。这一信号转导级联的结果是在注定变成 E 细胞的 EMS 子细胞中下调 *pop-1* 基因的表达。在缺失 *pop-1* 的胚胎中，两个 EMS 子细胞都变成 E 细胞（Lin et al. 1995；Park et al. 2004）。因此，Wnt 信号途径对线虫前 - 后轴的建立有关键的作用。值得注意的是，如我们将要看到的那样，Wnt 信号途径在整个动物界都参与前 - 后轴的特化。

P2 细胞也产生一个关键信号，将 ABp 与其姊妹细胞 ABa 区分开来（见图 8.21）。ABa 细胞产生神经元、下皮及前部咽细胞，而 ABp 仅产生神经元和下皮细胞。然而，如果用实验手段将这两个细胞的位置相互交换，那么它们的命运也会发生反转，从而形成一个正常的胚胎。换句话说，ABa 和 ABp 是对等细胞，它们的命运取决于它们在胚胎中的位置（Priess and Thomson 1987）。细胞移植和遗传学实验证明，ABp 因为与 P2 细胞的相互作用而变得与 ABa 细胞不同。在未受干扰的胚胎中，ABa 和 ABp 都与 EMS 卵裂球相

接触，但只有 ABp 与 P2 细胞接触。如果在早期的 4 细胞胚胎中去除 P2 细胞，那么 ABp 细胞就不能产生它的正常细胞子代（Bowerman et al. 1992a，b）。ABp 与 P2 之间的接触对于 ABp 细胞的命运特化是必不可少的。如果强制性地使 ABa 细胞与 P2 细胞相接触，那么 ABa 就会被转变成 ABp 类型的细胞（Hutter and Schnabel 1994；Mello et al. 1994）。

这一相互作用受 ABp 细胞表面的 GLP-1 蛋白和 P2 卵裂球的 APX-1（anterior pharynx excess：前部咽过多）蛋白所介导。在母本具有 *glp-1* 突变的胚胎中，ABp 转变成一个 ABa 细胞（Hutter and Schnabel 1994；Mello et al. 1994）。GLP-1 是一个高度保守的 Notch 蛋白家族成员，在许多细胞与细胞的相互作用中发挥细胞膜受体的功能。ABa 和 ABp 细胞的表面都表达 GLP-1（Evans et al. 1994）[3]。一些 Notch 蛋白（如 GLP-1）的一个最重要的配体是细胞表面蛋白 Delta。在线虫中，与 Delta 类似的蛋白质是 P2 细胞表达的 APX-1（Mango et al. 1994a；Mello et al. 1994）。因为 APX-1 仅在与之接触的 AB 子细胞（也就是 ABp 卵裂球）中激活 GLP-1 蛋白，所以 APX-1 信号打破了 ABa 和 ABp 之间的对称性。这样，P2 细胞就能建立线虫的背 - 腹轴，并且使 ABp 细胞具有与其姊妹细胞不同的命运。

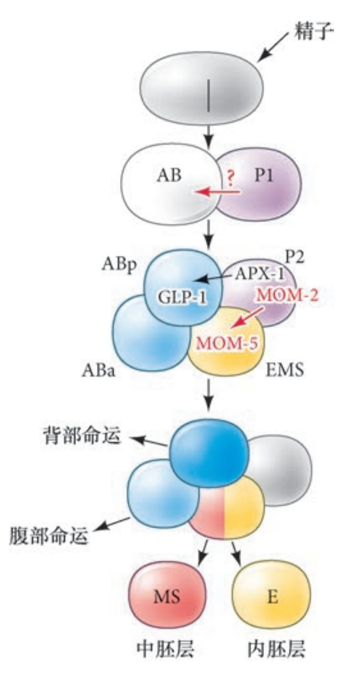


图 8.21　线虫 4 细胞期胚胎中细胞与细胞之间的信号传递。P2 细胞产生两个信号：①一个近分泌蛋白 APX-1（一个 Delta 同源蛋白），与 ABp 细胞表面的 GLP-1（Notch）结合；②一个旁分泌蛋白 MOM-2，与 EMS 细胞表面的 MOM-5（Frizzeld）蛋白结合（参考 Han 1998）。

自主性与条件性特化的整合：线虫咽部的分化　我们从上面的讨论中已经明确咽是来自两组细胞。一组是来自 EMS 细胞的咽前体细胞，依赖于母体 *skn-1* 基因。另一组咽前体细胞来自 ABa 卵裂球，依赖于源自 EMS 细胞的 GLP-1 信号途径。在这两种情况下，咽前体细胞都受到指令而激活 *pha-4* 基因（Mango et al. 1994b）。*pha-4* 基因编码一个与哺乳动物 HNF3β（肝细胞核因子）相似的转录因子。Gaudet 和 Mango（2002）利用微阵列研究显示，PHA-4 转录因子激活几乎所有咽特异的基因。PHA-4 转录因子似乎是一些母体信号输入的节点，并且能将它们转化成咽发育所需的合子基因转录的信号。

8.7　线虫的原肠胚形成

线虫的原肠胚形成开始的非常早，正好在 26 细胞期的胚胎产生了 P4 细胞之后（**图 8.22**；Skiba and Schierenberg 1992）。这时，E 细胞的两个子细胞（Ea 和 Ep）从胚胎的腹侧迁移到胚胎的中间位置。在那里它们分裂形成 20 个细胞组成的肠。在 Ea 和 Ep 细胞迁移之前，胚胎有一个很小和短暂的囊胚腔，而这些细胞向内迁移形成了一极小的胚孔。接下来，迁移经过这一胚孔的细胞是 P4 细胞，即生殖细胞的前体。它迁移至肠原基下方的一个位置。再接下来是中胚层细胞的运动：MS 细胞的子代细胞从胚孔的前侧向内迁移，而源自 C 和 D 细胞的肌肉前体细胞则从后侧进入。这些细胞分别处于肠管的左右两侧（Schierenberg 1997）。最后，在受精后大约 6 h，参与咽形成的 AB 子细胞向内部运动，而下胚层细胞（下

---

[3] GLP-1 蛋白定位于 ABa 和 ABp 卵裂球，但是母体 *glp-1* 的 mRNA 却分布在整个胚胎。因此，Evans 及其同事（1994）推测，在 AB 卵裂球中可能存在某种翻译决定物，使 *glp-1* 信使在其子细胞中翻译。*glp-1* 基因也活跃地调节胚胎发育后的细胞间相互作用。生殖腺的远端细胞利用它来控制进入减数分裂的生殖系细胞的数量；这也是其名称 GLP（“Germ Line Proliferation”的缩写，意为“生殖系增殖”）的由来。

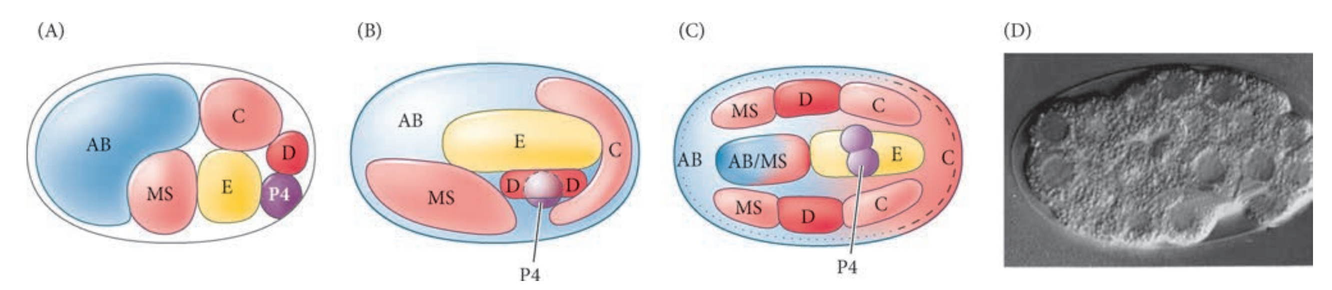


图 8.22 线虫的原肠胚形成。(A) 在 26 细胞期原肠胚形成开始时，生成细胞及其子代细胞的位置。(B) 102 细胞期，E、P4 和 D 子代细胞迁移之后。(C) 原肠胚形成接近结束时细胞的位置。点线和虚线分别代表 AB 和 C 细胞形成的下皮。(D) 原肠胚形成的早期，两个 E 细胞开始向内迁移（参考 Schierenberg 1997；照片由 E. Schierenberg 提供）。

皮细胞的前体）通过外包运动向腹部迁移，最终将胚孔包裹起来。在腹部中线相遇的先驱细胞顶端的上皮钙黏素将下皮的两侧封闭起来 (Raich et al. 1999)。

在接下来的 6 h 内，细胞运动并发育成器官，球形的胚胎也伸展成一条具有 556 个体细胞和 2 个生殖干细胞的蠕虫（见 Priess and Hirsh 1986；Schierenberg 1997）。有证据表明 (Schnabel et al. 2006)，尽管原肠胚形成过程中的各种运动已经产生了一个比较接近最终虫体的形态，进一步的“细胞聚焦”使细胞运动以形成功能性的空间排布。这里，具有相同命运的细胞沿前 - 后轴方向进行分选。此时也会发生其他形式的躯体图式化：多余的 115 个细胞进行凋亡（程序性死亡）。在经历 4 次蜕皮之后，线虫变成一个性成熟和雌雄同体的成体，具有精确的 959 个体细胞，以及大量的精子和卵子。

观察发育 8.6 北卡罗来纳大学 Goldstein 实验室的视频生动地展示了线虫的原肠胚形成。

区分线虫的发育和大部分其他被深入研究的模式生物的发育的一个特征是普遍性的细胞融合。在线虫的原肠胚形成过程中，大约有 1/3 的细胞融合在一起，形成含有许多细胞核的多核细胞。组成线虫下皮（皮肤）的 186 个细胞融合形成 8 个多核细胞。在阴门、子宫和咽中也可观察到细胞融合。通过观察抑制形成合胞体的突变可以确定这些融合事件的功能 (Shemer and Podbilewicz 2000，2003)。融合似乎可以阻止单个细胞迁移越过其正常的边界。在阴门的发育过程中（见第 2 章），融合能够阻止下皮细胞获得阴门的命运和形成一个异位但无功能的阴门。

线虫的研究整合了遗传学、细胞生物学、胚胎学、甚至还有生态学，以了解细胞分化和形态发生的调控网络。除了提供一些发育过程中基因表达如何变化的重要启发之外，对线虫的研究显示出这些网络如此复杂，令我们相形见绌。即便是线虫这样如此“简单”的生物体，仅需要几个基因和细胞类型，就可以用一个与左侧不同的方式来构建身体的右侧。上述的基因鉴定仅仅是我们对理解发育中复杂相互作用体系所做的一些努力的开始。

网络话题 8.3 **异时性基因和幼体时期的调控** 在变成一个成体前，线虫经历四个幼体时期。这些时期受控制特定信使翻译的一些微 RNA 所调节。

下一步的研究

很明显，尤其是相对于我们对脊椎动物发育的了解程度而言，我们甚至对无脊椎动物发育的最基本现象也了解得如此之少。例如，我们不知道极叶中形态发生决定物的特性或者它们是如何处在这个位置的。我们不知道 4d 细胞怎样获得产生中胚层和内胚层的能力。我们也不知道非腹足类软体动物，包括鱿鱼类、

八腕类、蛤类及石鳖类，是如何发育的，以及它们的细胞特化、卵裂及原肠胚形成的方式与蜗牛这样的腹足类软体动物是否有关联。此外，我们对软体动物的形态发生机制及它们的幼体变成幼态的机制也知之甚少。即便是线虫的遗传学研究已经相当完善，我们仍在探寻 PAR 蛋白是如何定位的，是什么引起单细胞线虫胚胎中的细胞质流。这些仅仅是发育基本问题中有待解决的部分例子。



开篇图的思考

在 1923 年，Alfred Sturtevant 发现了左旋的蜗牛壳，那是当时已知的第一个发育突变。他将椎实螺的遗传学与其螺旋方式联系在一起，确立了左旋表型是一种母体效应（见 239 页）。他的工作以一种高度可视的方式呈现出基因对发育的深刻影响。在 2016 年，蜗牛螺旋的遗传学基础可能已经被阐明，并且引起左右不对称的信号途径也基本明确（见 Davison et al. 2016）。目前，蜗牛壳螺旋形式的遗传学使我们获得了对早期发育的理解，向我们揭示了一些发育生物学的原则，如卵裂球特征的建立，以及形态发生决定物在创造生物体最终表型的过程中如何影响卵裂和原肠胚形成的图式（照片由 R. Kuroda 提供）。

8 要点总结

蜗牛和线虫的早期发育

1. 体轴在不同的物种中以不同的方式建立。在一些物种中，体轴是在受精时通过卵细胞质中的决定物建立的。在其他一些物种中，如线虫和蜗牛，体轴是由发育后期细胞之间的相互作用而建立的。
2. 蜗牛和线虫具有完全卵裂。蜗牛的卵裂呈螺旋式；线虫的卵裂呈旋转式。
3. 在蜗牛和线虫，当胚胎具有较少数量的细胞时便开始进行原肠胚形成。胚孔变成口（原口动物方式的原肠胚形成）。
4. 蜗牛的螺旋式卵裂形成实囊胚（即没有囊胚腔的囊胚）。卵裂螺旋的方向受母体编码的一个因子调节，这个转录因子在卵母细胞中表达。螺旋卵裂能通过进化而发生改变，它的适应性改变使有些软体动物在恶劣的环境中生存。
5. 一些软体动物的极叶中含有中胚层和内胚层的形态发生决定物。这些决定物进入 D 卵裂球。
6. 土壤中的秀丽隐杆线虫被选择为模式生物是因为它具有少量细胞、一个小的基因组、容易饲养繁育、短的生命周期、可以对其进行遗传操作、可以透过其外皮观察细胞的运动。
7. 在秀丽隐杆线虫合子的早期卵裂过程中，一个子细胞成为一个生成细胞（产生分化的后代），另一个成为干细胞（产生另一些生成细胞和生殖系）。
8. 秀丽隐杆线虫卵裂球的特征受自主性和条件性特化两种方式调节。

拓展阅读

Crampton, H. E. and E. B. Wilson. 1896. Experimental studies on gastropod development. *Arch. Entw. Mech.* 3: 1–18.

Davison, A. and 15 others. 2016. Formin is associated with left-right asymmetry in the pond snail and frog. *Curr. Biol.* 26: 654–660.

Henry, J. Q. 2014. Spiralian model systems. *Int. J. Dev. Biol.* 58: 389-401.

Hoso, M., Y. Kameda, S.-P. Wu, T. Asami, M. Kato and M. Hori. 2010. A speciation gene for left–right reversal in snails results in anti-predator adaptation. *Nature Communications* 1: 133. doi:10.1038/ncomms1133.

Lambert, J. D. 2010. Developmental patterns in spiralian embryos. *Curr. Biol.* 20: 272–277.

Resnick T. D., K. A. McCulloch and A. E. Rougvie. 2010. miRNAs give worms the time of their lives: Small RNAs and temporal control in *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Dyn.* 239:1477–1489.

Shibazaki, Y., M. Shimizu and R. Kuroda. 2004. Body handedness is directed by genetically determined cytoskeletal dynamics in the early embryo. *Curr. Biol.* 14: 1462–1467.

Sturtevant, A. H. 1923. Inheritance of direction of coiling in *Limnaea*. *Science*, New Series, 58: 269-270.

Sulston, J. E., J. Schierenberg, J. White and N. Thomson. 1983. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* 100: 64–119.

Wilson, E. B. 1898. Cell lineage and ancestral reminiscence. In *Biological Lectures from the Marine Biological Laboratories, Woods Hole, Massachusetts*, pp. 21–42. Ginn, Boston.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 9 章

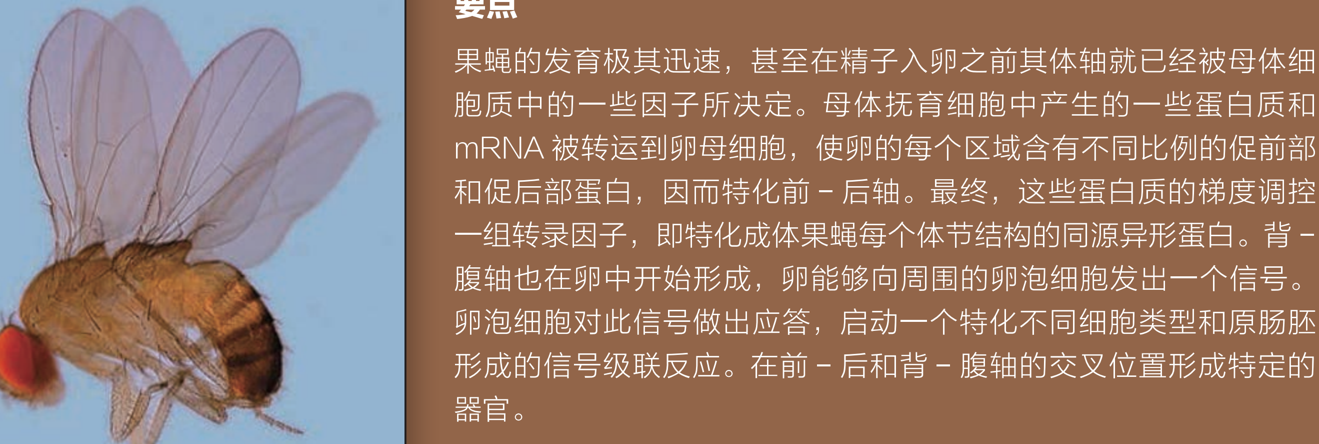
果蝇体轴特化的遗传学

归功于摩尔根（Thomas Hunt Morgan，托马斯·亨特·摩尔根）实验室在 20 世纪前 20 年的开拓性研究，相对于任何其他多细胞生物，我们对黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）的遗传学有更深入的了解。其中的原因有两个，一个是果蝇本身，另一个是那些首先研究果蝇的人们。果蝇容易饲养、适应力强、容易繁殖、可耐受不同的环境条件。此外，在某些幼体细胞中，DNA 能复制多次但不分离。这使数百条 DNA 链相邻排列，形成多线（polytene，希腊语的意思是“许多线”）染色体（图 9.1）。未使用的 DNA 结构更为致密，比起其他活跃的 DNA 区域染色更深。这种带型图式可以用来指示基因在染色体上的物理位置。摩尔根实验室建立了突变品系的数据库及交流网络，任何其他实验室都可以通过这种方式来获取这些资源。

历史学家 Robert Kohler 在 1994 年记述到，“果蝇的一个主要优势最初曾被历史学家所忽视：它是作为学生项目的一种杰出生物体”。的确，大学生（从 Calvin Bridges 和 Alfred Sturtevant 开始）在果蝇的

是什么样的发育变化导致这只果蝇有四个翅而不是两个？

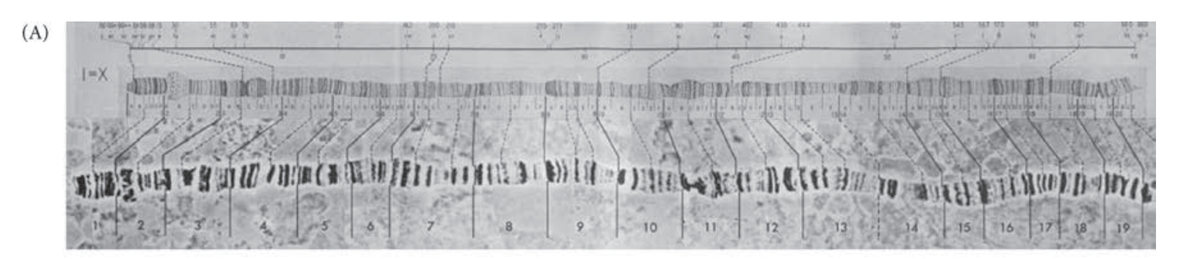




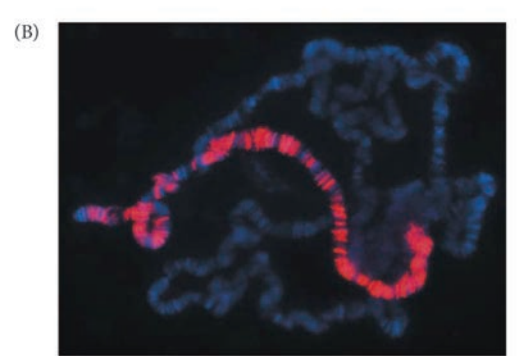
要点

果蝇的发育极其迅速，甚至在精子入卵之前其体轴就已经被母体细胞质中的一些因子所决定。母体抚育细胞中产生的一些蛋白质和 mRNA 被转运到卵母细胞，使卵的每个区域含有不同比例的促前部和促后部蛋白，因而特化前 – 后轴。最终，这些蛋白质的梯度调控一组转录因子，即特化成体果蝇每个体节结构的同源异形蛋白。背 – 腹轴也在卵中开始形成，卵能够向周围的卵泡细胞发出一个信号。卵泡细胞对此信号做出应答，启动一个特化不同细胞类型和原肠胚形成的信号级联反应。在前 – 后和背 – 腹轴的交叉位置形成特定的器官。

(A)



(B)



袖珍指南

果蝇的这一部分有一些不同寻常的延时录像，包括卵裂和原肠胚形成。这一部分也提供了关于果蝇生命周期的链接。

图 9.1 果蝇的多线染色体。幼体唾液腺和其他组织中的 DNA 复制后不分离。(A) 黑腹果蝇 X 染色体的照片。上方的图是摩尔根的学生 Calvin Bridges 在 1935 年绘制的。(B) 第三龄雄性黑腹果蝇唾液腺细胞的染色体。每个多线染色体具有 1024 条 DNA 链（蓝色）。这里，转录因子 MSL 的抗体（红色）特异性地结合 X 染色体。MSL 加速单条雄性 X 染色体上基因的表达，以此使它与两条雌性 X 染色体上基因表达的数量相匹配 (A 图来自 Brody 1996；B 图照片由 A. A. Alekseyenko 和 M. I. Kuroda 提供）。

研究中扮演了重要的角色。Kohler 说，果蝇遗传学的研究计划是“由年轻人设计的年轻人游戏”，而且学生们为果蝇的研究制定了规则：“没有行业机密、没有垄断、没有偷猎、没有伏击”。

Jack Schultz（最初在摩尔根的实验室工作）和其他人曾尝试将迅速增多的果蝇遗传学数据与其发育联系起来。但果蝇是一种难于用来做胚胎学研究的生物。果蝇的胚胎复杂且难以处理，既不足够大以便用于实验操作，也不足够透明以便用于显微观察。直到分子生物学技术的出现，才使得研究人员能够鉴别并操作这个昆虫的基因和 RNA，并将遗传与发育联系起来。这样就在生物学领域发生了一场革命。这场革命现在依然在进行，很大程度上是因为我们拥有了果蝇全基因组序列，而且能够迅速地制作转基因果蝇 (Pfeiffer et al. 2009；del Valle Rodríguez et al. 2011)。研究人员现在能够鉴别出发生在胚胎很小区域内的发育相互作用，鉴别出增强子及其转录因子，并且可以利用数学模型在很高的精度上模拟这些相互作用 (Hengenius et al. 2014)。

9.1 果蝇的早期发育

我们已经讨论过储存在卵母细胞中的细胞质决定物对早期胚胎细胞的特化作用。卵裂过程中形成的细胞膜的确将不同的细胞质区域分配到每个新的卵裂球，而后，这些细胞质中的形态发生决定物引导每个细胞中的差异性基因表达。但是在果蝇的发育过程中，细胞膜只有在第 13 次细胞核分裂之后才形成。在此之前，分裂的细胞核共享细胞质，并且一些物质可以扩散到整个胚胎。沿前 - 后轴和背 - 腹轴的细胞特化由位于单个多核细胞内部一些成分之间的相互作用而完成。此外，这些轴向差异起始于更早期的发育阶段，受卵在母体卵室中的位置所决定。线虫类和被囊动物的精子入卵位置决定了它们的体轴，然而果蝇的前 - 后轴和背 - 腹轴是在受精之前受卵与其周围的卵泡细胞之间的相互作用而决定。

观察发育 9.1 “互动的果蝇”网站有一些特色的视频，在各个方面显示果蝇的发育。

9.1.1　受精

果蝇的受精是一系列不同寻常的事件，与我们之前所描述的受精过程有很大的不同。

- 精子进入一个已经激活的卵。果蝇卵的激活在产卵时就已经完成，也就是在受精开始前几分钟。在果蝇的卵母细胞经过一个狭小的孔隙被挤出来的时候，钙通道开放并且钙离子流入。然后卵母细胞核重启减数分裂，细胞质中的一些 mRNA 在没有受精的情况下开始翻译（Mahowald et al.1983；Fitch and Wakimoto 1998；Heifetz et al. 2001；Horner and Wolfner 2008）。
- 只存在一个精子入卵的位置。这就是**精孔**（**micropyle**），一个位于胚胎未来背前部区域卵壳上的通道。精孔一次仅允许一个精子通过，可能是为了防止发生多精入卵。尽管可以观察到皮质变化，但没有防止多精入卵的皮质颗粒。
- 精子与卵细胞膜不融合。相反，精子完整地进入卵。雌、雄原核的 DNA 在原核融合之前复制。在原核融合之后，直到第一次有丝分裂结束，母本和父本的染色体保持分离（Loppin et al. 2015）。

网络话题 9.1　**果蝇的受精**　一个果蝇的卵只能在将来变成胚胎前部的卵母细胞区域受精。此外，精子的尾部似乎保留在这个位置。

9.1.2　卵裂

大部分昆虫的卵进行**表面卵裂**（**superficial cleavage**），大量的中央卵黄将卵裂局限在卵的细胞质边缘（见图 1.5）。这种卵裂方式的一个迷人特征是直到细胞核分裂几次之后细胞才得以形成。在果蝇的卵中，核分裂并不伴随着细胞质分裂（细胞分裂），这样就形成一个**合胞体**（**syncytium**），即许多核共享同一细胞质的单一细胞（图 9.2）。合子细胞核在卵的中心区域进行几次核分裂；连续的 8 次细胞核分裂（平均每 8 min 一次）产生了 256 个细胞核（图 9.3A，B）。这一快速分裂由细胞周期的 S 期（DNA 复制）和 M 期（有丝分裂）但没有间期（G）的多轮交替来完成。在第 9 个分裂周期，大约 5 个细胞核到达胚胎后极的表面。这些核被细胞膜包裹，形成了产生成体配子的**极细胞**（**pole cell**）。在第 10 个分裂周期，其他细胞核迁移至卵皮质（周缘），继续进行有丝分裂，但分裂速度逐渐减慢（图 9.3C，D；Foe et al. 2000）。在这些时期的细胞核分裂过程中，除了卵本身的细胞膜之外没有新的细胞膜形成，因此这时的胚胎被称

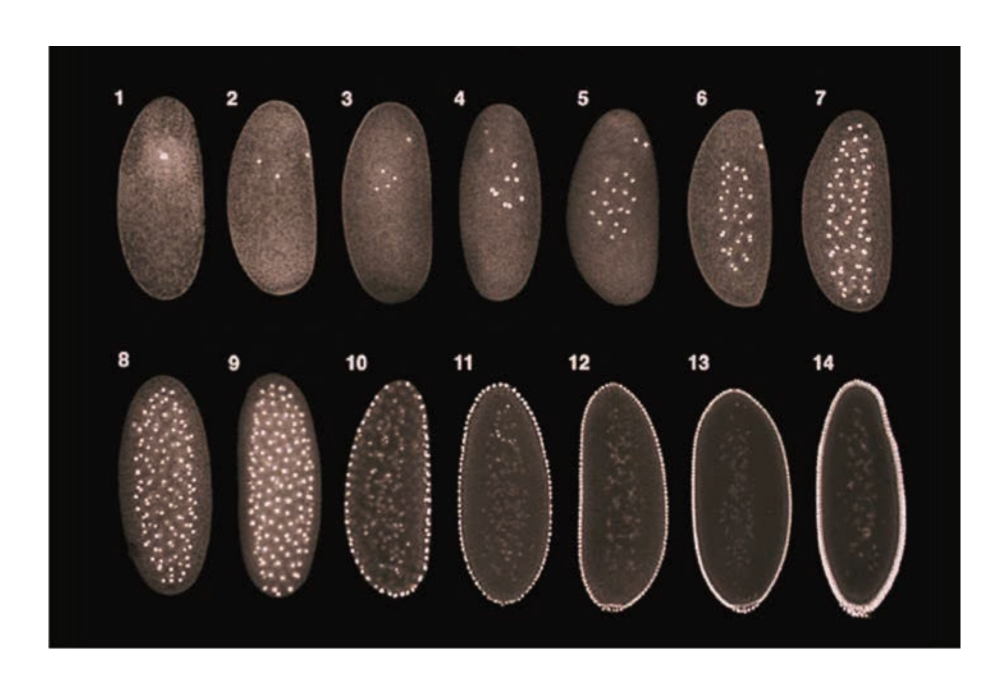


图 9.2　染色质被染色后的激光共聚焦显微图片显示一个系列的果蝇胚胎中合胞体核分裂和表面卵裂。胚胎上方是将来的前端；数字代表核分裂周期。早期的核分裂发生在合胞体中央。后来，细胞核与其周围的细胞质岛（活质体）迁移到细胞周缘，形成合胞体胚盘。在第 13 个分裂周期后，细胞膜在细胞核之间内移，从而形成细胞胚盘。极细胞（生殖细胞前体）在后部形成（图由 D. Daily 和 W. Sullivan 提供）。

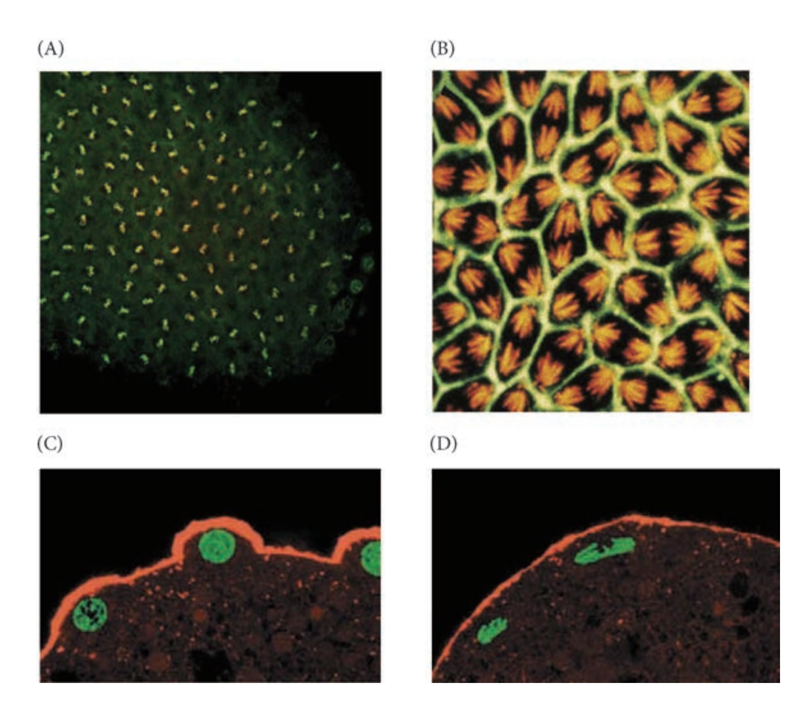


图 9.3 果蝇胚胎的核分裂和细胞分裂。(A) 用染料将 DNA 染色后可以观察到果蝇合胞体胚胎的核分裂（而不是细胞分裂）。第一个细胞化的区域，也就是极区，形成胚胎后部的细胞，最终变成果蝇的生殖细胞（精子或卵）。(B) 染色体在一个合胞体胚盘的皮质中分裂。尽管没有细胞边界，但可以观察到肌动蛋白（绿色）形成一些单个细胞核在其中分裂的区域。有丝分裂器的微管用微管蛋白的抗体染成红色。(C，D) 一个第 10 分裂周期的果蝇胚胎的部分截面，显示合胞体细胞皮质中的细胞核（绿色），以及与之相邻的一层肌动蛋白微丝（红色）。(C) 处在分裂间期的细胞核。(D) 分裂后期的细胞核平行于皮质进行分裂，使细胞核维持在细胞周缘（A 图来自 Bonnefoy et al.2007；B 图来自 Sullivan et al. 1993，由 W. Theurkauf 和 W. Sullivan 提供；C 图和 D 图来自 Foe 2000，由 V. Foe 提供）。

为**合胞体胚盘**（**syncytial blastoderm**）。

尽管细胞核在共享的细胞质中分裂，但细胞质本身却很不均一。Karr 和 Alberts（1986）证明，合胞体胚盘中的每个细胞核都被容纳在自身的细胞骨架蛋白所形成的微小区域内。在第 10 个分裂周期过程中，细胞核迁移到卵的周缘，每个细胞核都被微管和微丝所包围。细胞核以及与之相关的细胞质岛被称为**活质体**（**energid**）。在第 13 个分裂周期之后，细胞膜（覆盖整个卵）在细胞核之间向内发生褶皱，最终将每个活质体分割成单个细胞。这一过程形成了**细胞胚盘**（**cellular blastoderm**），其中所有的细胞排列组成一个单细胞层，覆盖在卵的多卵黄核心周围（Turner and Mahowald 1977；Foe and Alberts 1983；Mavrakis et al. 2009）。

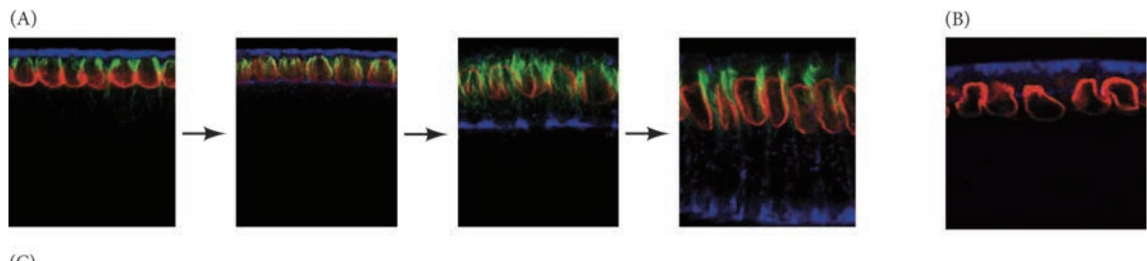
像所有的细胞形成过程一样，细胞胚盘的形成涉及微管和微丝之间的一系列精细相互作用（图 9.4）。膜的运动、核的延伸、肌动蛋白的聚合似乎都受微管的协调（Riparbelli et al. 2007）。胚盘细胞化的第一阶段是以细胞核之间的细胞膜内陷而形成沟道为特征。这一过程能被阻断微管的药物所抑制。在沟道通过细胞核的水平之后，开始发生细胞化的第二阶段，内陷速度加快，肌动蛋白 - 膜复合物在将要成为细胞基端的位置开始收缩（Foe et al. 1993；Schejter and Wieschaus 1993；Mazumdar and Mazumdar 2002）。果蝇的细胞胚盘由大约 6000 个细胞组成，在受精后 4 h 内形成。

> **观察发育 9.2** 延时视频显示果蝇合胞体胚胎的表面卵裂。

9.1.3 中囊胚期转换

当细胞核到达外围之后，在随后的四次分裂中每次分裂完成的时间逐渐变长。从第 1 到第 10 个分裂周期的平均周期时间是 8 min。第 13 个周期，也就是合胞体胚盘的最后一个周期，需要 25 min 才能完成。果蝇胚胎形成细胞的第 14 个周期（即第 13 个周期之后）的分裂变得不同步。一些细胞完成这一周期需要 75 min，另一些则需要 175 min（Foe 1989）。

在这一时间点，细胞核基因开始变得活跃。在这之前，卵子发生过程中储存在卵中的一些蛋白质和 mRNA 引导早期发育。它们是母体基因的产物，而不是胚胎自身细胞核中的基因产物。在母体中具有活性的基因产生一些用于后代早期发育的产物，这些基因通常被称为**母体效应基因**（**maternal effect gene**）。



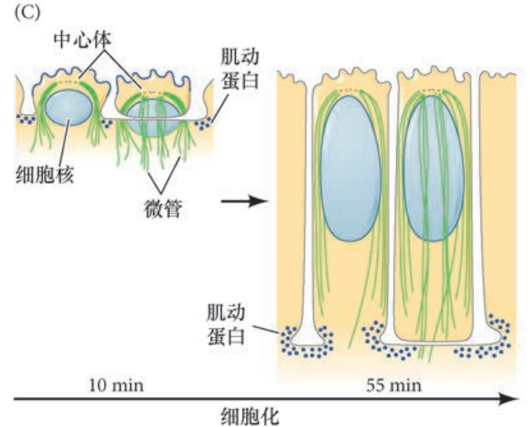


图 9.4　果蝇细胞胚盘的形成。细胞核形状变化和细胞化过程受细胞骨架协调。(A) 将胚胎的微管（绿）、微丝（蓝）和细胞核（红）染色后显示细胞化及细胞核形状变化。细胞核的红色染色是因为 Kugelkern（德语“弹芯”）蛋白的表达，它是合子细胞核最早产生的一些蛋白质之一，对细胞核的延伸至关重要。(B) 用有丝分裂抑制剂诺考达唑 (nocadozole) 处理胚胎以干扰微管。细胞核不能延伸，细胞化被抑制。(C) 细胞形成和细胞核延伸的示意图（参考 Brandt et al. 2006；照片由 J. Grosshans and A. Brandt 提供）。

在卵母细胞中的 mRNA 通常被称为**母体信使** (**maternal message**)。合子基因的转录（也就是胚胎自身基因的激活）大概起始于第 11 个分裂周期，并在第 14 个周期时大幅度增强。这样一个细胞核分裂减缓、细胞化和伴随着新 RNA 转录升高的过程通常被称为**中囊胚期转换** (**mid-blastula transition**)。在这一时期，母体提供的 mRNA 被降解，对发育的调控被转交到合子自身的基因组 (Brandt et al. 2006；De Renzis et al. 2007；Benoit et al. 2009)。在众多的脊椎和无脊椎动物门中都可以见到这种**母体到合子的转换** (**maternal-to-zygotic transition**)。

网络话题 9.2　**果蝇的中囊胚期转换机制**　中囊胚期转换和母体到合子转换的协调受几个因素控制，包括：①染色质与细胞质的比率；② Smaug 蛋白；③转录因子 Zelda。

9.1.4　原肠胚形成

果蝇胚胎、幼体和成体呈现出相同的基本躯体图式：都具有明显的头部和尾部，以及位于中间的重复性体节单元。在这些体节中，3 个形成胸部，其他 8 个形成腹部。成体果蝇的每个体节都具有自身的特征。例如，第一胸节只有腿，第二胸节具有腿和翅，而第三胸节具有腿和平衡棒（平衡器官）。

在中囊胚期转换后不久便发生原肠胚形成。果蝇原肠胚形成过程中最先开始的细胞运动将预定中胚层、内胚层和外胚层分隔开来。预定中胚层由位于胚胎腹部中线的大约 1000 个细胞组成，这些细胞向内发生褶皱而形成**腹沟** (**ventral furrow**)。腹沟最终从腹部表面脱离，在胚胎内变成腹管（**图 9.5A**）。预定内胚层在腹沟的前后两端处内陷形成两个凹窝。极细胞与内胚层一起内部化（**图 9.5B，C**）。此时，胚胎发生弯曲，形成**头沟** (**cephalic furrow**)。

胚胎表面的外胚层细胞及中胚层进行集中和延伸，向腹部中线迁移，形成**胚带** (**germ band**)，这是一些沿腹部中线分布的细胞，包括那些将要形成胚胎躯干部的所有细胞。可能是由于卵鞘的原因，胚带向后延伸，包裹在胚胎的上部（背部）表面（**图 9.5D**）。因此，当胚带形成结束时，注定形成大部分后部幼体结构的细胞紧邻未来头部区域之后（**图 9.5E**）。此时，体节开始出现，将外胚层和中胚层分成区段。而后，胚带回缩，将预定后部体节置于胚胎的后端（**图 9.5F**）。在背部表面，两侧的表皮在一个称为**背向**

闭合（**dorsal closure**）的过程中汇合在一起。羊浆膜（围绕胚胎的胚外层）是最背部的结构，与表皮细胞相互作用，促进它们的迁移（见 Panfilio 2008；Heisenberg 2009 综述文章）。

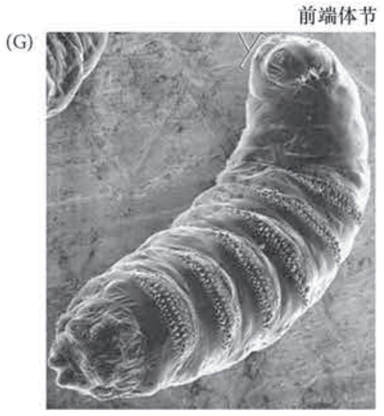


图 9.5 果蝇的原肠胚形成。在这一系列的扫描电镜图片中，每个进行原肠胚形成的胚胎的前端朝上。(A) 沿腹部中线两侧的细胞内陷，开始形成腹沟。(B) 腹沟闭合，中胚层细胞位于内部，表面外胚层位于腹部中线两侧。(C) 稍后时期的胚胎背部观，显示极细胞和后部内胚层陷入胚胎。(D) 一个胚胎在分节之前胚带已经完全延伸的背侧面观示意图。头沟将未来头部（原头）与将要形成胸腹部的胚带分开。(E) 侧面观，显示胚带的完全延伸和分节的起始。轻微的凹陷标志沿胚带形成的新生体节。Ma、Mx 和 Lb 对应于大颚、下颚和唇部的头节；T1 ～ T3 是胸节；A1 ～ A8 是腹节。(F) 胚带方向逆转。现在可见真正的体节，以及头部背侧的其他一些区域，如唇基上唇、原头区、视脊和背脊。(G) 刚孵化的一龄幼体（照片由 F. R. Turner 提供；D 图参考 Campos-Ortega and Hartenstein 1985）。

当胚带处在延伸的位置时，出现几个关键的形态发生过程：器官形成、分节（图 9.6A）、成虫盘[1]的分离。神经系统形成于两个腹部外胚层区域。成神经细胞（即神经祖细胞）从成神经外胚层分化产生，并向内迁移至每个体节的内部（成神经细胞也来自头部外胚层的不分节区域）。因此，在像果蝇这样的昆虫中，神经系统位于腹部，而不是像在脊椎动物中那样源于背部神经管（图 9.6B；也见图 9.29）。

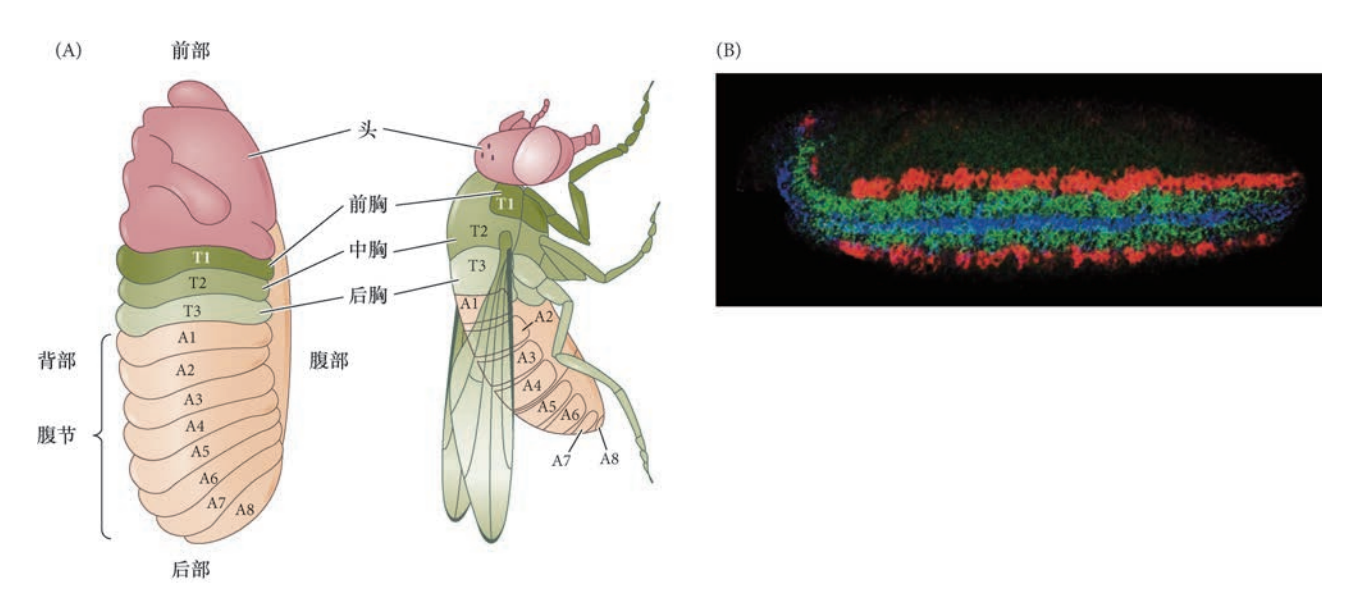


图 9.6　果蝇的体轴形成。(A) 幼体（左）和成体（右）分节的比较。在成体，三个胸节可由它们的附肢加以区分：T1（前胸）仅有腿，T2（中胸）具有腿和翅，T3（后胸）具有平衡棒（图中未显示）和腿。(B) 在原肠胚形成过程中，最腹部的中胚层细胞进入胚胎内部，表达 *Short gastrulation* 基因（*Sog*，意思是"短的原肠胚形成"）的成神经细胞变成位于胚胎最腹部的细胞。*Sog* 基因的表达被标记为蓝色；*ventral nervous system defective*（"腹部神经系统缺陷"）基因的表达被标记为绿色；*intermediate neuroblast defective*（"居间成神经细胞缺陷"）基因的表达被标记为红色（B 图由 E. Bier 提供）。

观察发育 9.3　观看一段显示果蝇内部和外部发育的视频。

9.2　果蝇躯体图式形成的遗传机制

大部分参与塑造果蝇幼体和成体的基因都是在 20 世纪 80 年代利用一种有效的正向遗传学手段（也就是鉴别导致某一特定表型的基因）被鉴别出来的。这种手段的基本策略是使果蝇产生随机突变，而后再筛选干扰正常躯体图式形成的突变。其中一些突变非常令人惊奇，包括幼体和成体果蝇的某些特异体轴结构，或者丢失，或者处在错误的位置。这些突变体现存于许多不同的实验室。后来，造成这些突变表型的基因被测序，其表达图式和功能也被逐一阐明。这些共同的努力使我们对果蝇躯体图式形成的分子调节机制的认识在整个生物学中是前所未有的。因此在 1995 年，这项工作使 Edward Lewis、Christiane Nüsslein-Volhard 和 Eric Wieschaus 获得了诺贝尔奖。

这一章的其余内容将详细讲述在过去的三十年里我们对果蝇发育的遗传学所获得的认识。首先，我们将探索发育中的卵母细胞如何通过与其周围的卵泡细胞相互作用而建立胚胎的前 - 后轴。接下来我们会看到胚胎背 - 腹图式形成的梯度是怎样建立的，以及这些梯度如何特化不同类型的组织。最后，我们将简要地介绍胚胎组织沿着这两个初级体轴定位后如何被特化为特定的器官。

[1] 成虫盘是用来产生成体结构的细胞。成虫盘的分化将作为变态的一部分内容在第 21 章讨论。

9.3 分节和前 - 后躯体图式

胚胎的发育过程也许正式起始于受精。但实际上，果蝇胚胎发育中许多至关重要的分子事件在卵子发生期间就已经启动。每个卵母细胞都是一个雌性生殖细胞，即**卵原细胞**（**oogonium**）的后代细胞。在卵子发生开始时，卵原细胞进行四次不完全的胞质分裂，产生 16 个互相连接的细胞。这 16 个生殖系细胞与环围它们的体细胞性卵泡细胞所形成的上皮层共同组成**卵室**（**egg chamber**）。卵母细胞将在其中发育。这些生殖系细胞包括 15 个代谢活跃的**抚育细胞**（**nurse cell**），它们产生一些 mRNA 和蛋白质，并将其输送到将要成为卵母细胞的那个细胞。当卵母细胞前体在卵室的后端发育时，抚育细胞产生大量的 mRNA，通过细胞间的相互连接沿着微管被输送到逐渐增大的卵母细胞。

Nüsslein-Volhard 和 Wieschaus 开拓性的遗传筛选工作鉴别出一系列具有上下游调控关系的基因，这些基因参与：①建立前 - 后极性；②将胚胎分成特定数目的体节，每个体节都具有不同的特征（图 9.7）。这个调控关系首先由**母体效应基因**（**maternal effect gene**）启动，它们产生的信使 RNA 定位于卵的不同区域。这些 mRNA 编码一些调节转录或翻译的蛋白质，然后这些蛋白质在合胞体胚盘中扩散，激活或者抑制一些合子基因的表达。

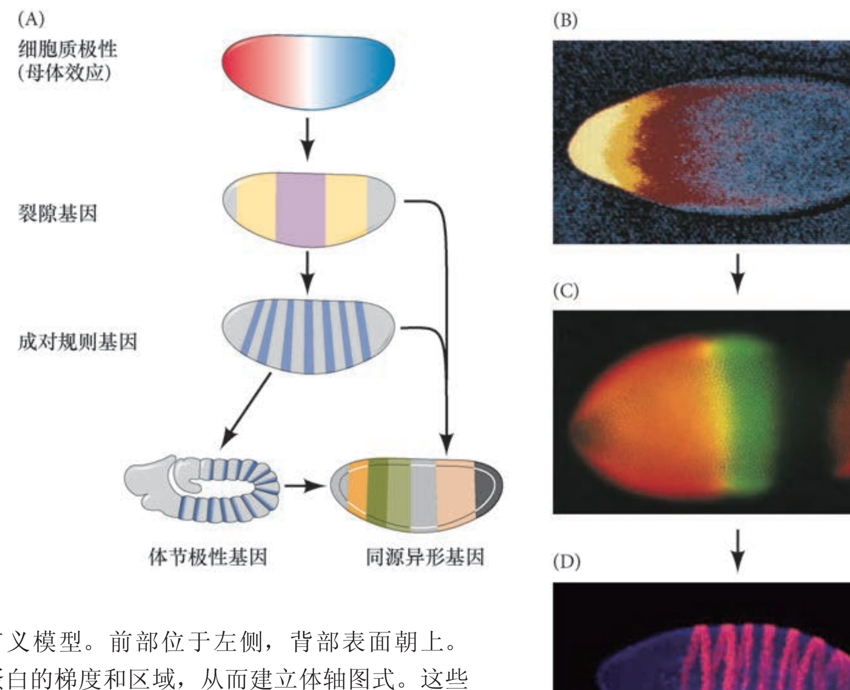


图 9.7 果蝇前 - 后图式形成的广义模型。前部位于左侧，背部表面朝上。(A) 母体效应基因产生形态发生蛋白的梯度和区域，从而建立体轴图式。这些蛋白质是转录因子，激活一些参与限定胚胎较大区域的裂隙基因。裂隙基因激活成对规则基因的表达。每个成对规则基因将胚胎分成大约两个体节宽度的区域。而后，体节极性基因沿前 - 后轴将胚胎分成一些体节单元。这些基因共同限定那些赋予每个体节不同特征的同源异形基因的空间区域。通过这种方式，周期性从非周期性中产生，每个体节被赋予独有的特征。(B) 母体效应基因。Bicoid 蛋白梯度特化前部体轴（由黄至红；黄色表示浓度最大）。(C) 裂隙基因的蛋白表达和重叠。Hunchback 蛋白的表达区域（橙色）与 Krüppel 蛋白的表达区域（绿色）重叠形成一个同时具有两种转录因子的区域（黄色）。(D) 成对规则基因 *fushi tarazu* 的产物在胚胎的胚盘中形成 7 个条带。(E) 体节极性基因 *engrailed* 的产物在延伸的胚带期胚胎中的表达图式（B 图由 C. Nüsslein-Volhard 提供；C 图由 C. Rushlow 和 M. Levine 提供；D 图由 D. W. Knowles 提供；E 图由 S. Carroll 和 S. Paddock 提供）。

最先表达的合子基因是一些**裂隙基因**（**gap gene**），这些基因的突变会导致分节图式出现裂隙。它们表达在一些较宽（大约三个体节宽度）和部分重叠的区域。裂隙基因编码转录因子，不同组合和浓度的裂隙蛋白调节**成对规则基因**（**pair-rule gene**）的转录，而这些基因再将胚胎分成周期性的单元。不同的成对规则基因的转录产生了一个由 7 条横向带形成的条带图式，与前 - 后轴垂直。成对规则基因编码的转录因子激活**体节极性基因**（**segment polarity gene**）。这些基因的 mRNA 和蛋白质产物将胚胎分成 14 个体节单元，从而形成胚胎的周期性。同时，裂隙基因、成对规则基因及体节极性基因的蛋白质产物相互作用，调节另一组基因，即**同源异形选择者基因**（**homeotic selector gene**）的表达。这些基因的转录决定了每个体节的发育命运。

9.3.1　卵母细胞的前 - 后极性

当卵母细胞还处在卵室时，胚胎的前 - 后极性就已经建立。这一过程涉及发育中的卵与周围卵泡细胞之间的相互作用。最初，环围卵母细胞的卵泡上皮细胞具有均一的细胞命运，但这种均一性被卵母细胞核所组织的两个信号打破。有意思的是，这两个信号都涉及同一基因——***gurken***。*gurken* 的信使似乎在抚育细胞中合成，但被转运到卵母细胞，定位在卵母细胞的核和细胞膜之间，并被翻译成蛋白质（Cáceres and Nilson 2005）。此时，卵母细胞核非常靠近将要成为卵室后部末端的位置，在这个位置的卵泡细胞通过一个由 ***torpedo*** 基因[2] 编码的受体蛋白接收 Gurken 信号（**图 9.8A**）。这一信号使这些卵泡细胞“后部化”（**图 9.8B**）。后部的卵泡细胞再向卵母细胞发回一个信号。这个信号是一个脂激酶，将 Par-1 蛋白招募至卵母细胞的细胞质后部边缘（**图 9.8C**；Doerflinger et al. 2006；Gervais et al. 2008）。Par-1 蛋白特异地利用它的负（帽）端和正（生长）端分别在卵母细胞的前端和后端组织微管（Gonzalez-Reyes et al. 1995；Roth et al. 1995；Januschke et al. 2006）。

由于不同的微管马达蛋白需要将它们的 mRNA 或蛋白载荷向不同的方向运输，因此微管的方向是关键的。马达蛋白中的驱动蛋白是一个腺苷三磷酸酶，利用 ATP 的能量将物质输送到微管的正端。然而，动力蛋白是一种“负端导向”的马达蛋白，将其荷载物向相反的方向运输。驱动蛋白沿微管向卵母细胞后端输送的一种信使 RNA 是 ***oskar***（Zimyanin et al. 2008）。只有在到达后部皮质时 *oskar* 才能被翻译成蛋白质。Oskar 招募更多的 Par-1 蛋白，以此稳定微管的定向，并使更多的物质被招募到卵母细胞的后极（Doerflinger et al. 2006；Zimyanin et al. 2007）。因此，后极将具有自身独特的细胞质，称为**极质**（**pole plasm**），含有产生腹部和生殖细胞的决定物。

卵母细胞中的细胞骨架重排伴随着细胞体积的增加，这是由于抚育细胞的细胞质组分输入的结果。这些组分包括一些母体信使 RNA，如 ***bicoid*** 和 ***nanos***。这些 mRNA 由马达蛋白沿微管分别运送到卵母细胞的前端和后端（**图 9.8D ～ F**）。就如我们即将看到的那样，*bicoid* 和 *nanos* 编码的蛋白质对胚胎前 - 后极性的建立至关重要。

9.3.2　母体梯度：卵母细胞的细胞质对极性的调节

早期胚胎中的蛋白梯度　一系列的结扎实验（见网络话题 9.3）显示出两个组织中心控制昆虫的发育：一个前部的头部形成中心和一个位于胚胎后部的后部形成中心。这些中心分泌一些物质，产生一个形成头部的梯度和一个形成尾部的梯度。在 20 世纪 80 年代后期，这一梯度假说与研究果蝇胚胎发育的遗传学方法整合在一起。如果存在梯度的话，那么浓度在空间上发生变化的形态发生素是什么呢？是什么基因塑造了这些梯度？在具有这些形态发生素的位置，它们是否通过激活或者抑制某些基因来发挥作用？Christiane Nüsslein-Volhard 领导的研究项目解决了这些问题。研究人员发现，第一组基因编码胚胎前部的形态发生素；第二组基因编码组织胚胎后部的形态发生素；第三组基因编码的蛋白质产生胚胎两端的末梢区域，也就是顶节和尾（**表 9.1**）。

---

[2] Gurken 蛋白是 EGF（epidermal growth factor：“表皮生长因子”）家族的一个成员，*torpedo* 编码一个脊椎动物 EGF 受体的同源物（Price et al. 1989；Neuman-Silberberg and Schüpbach 1993）。

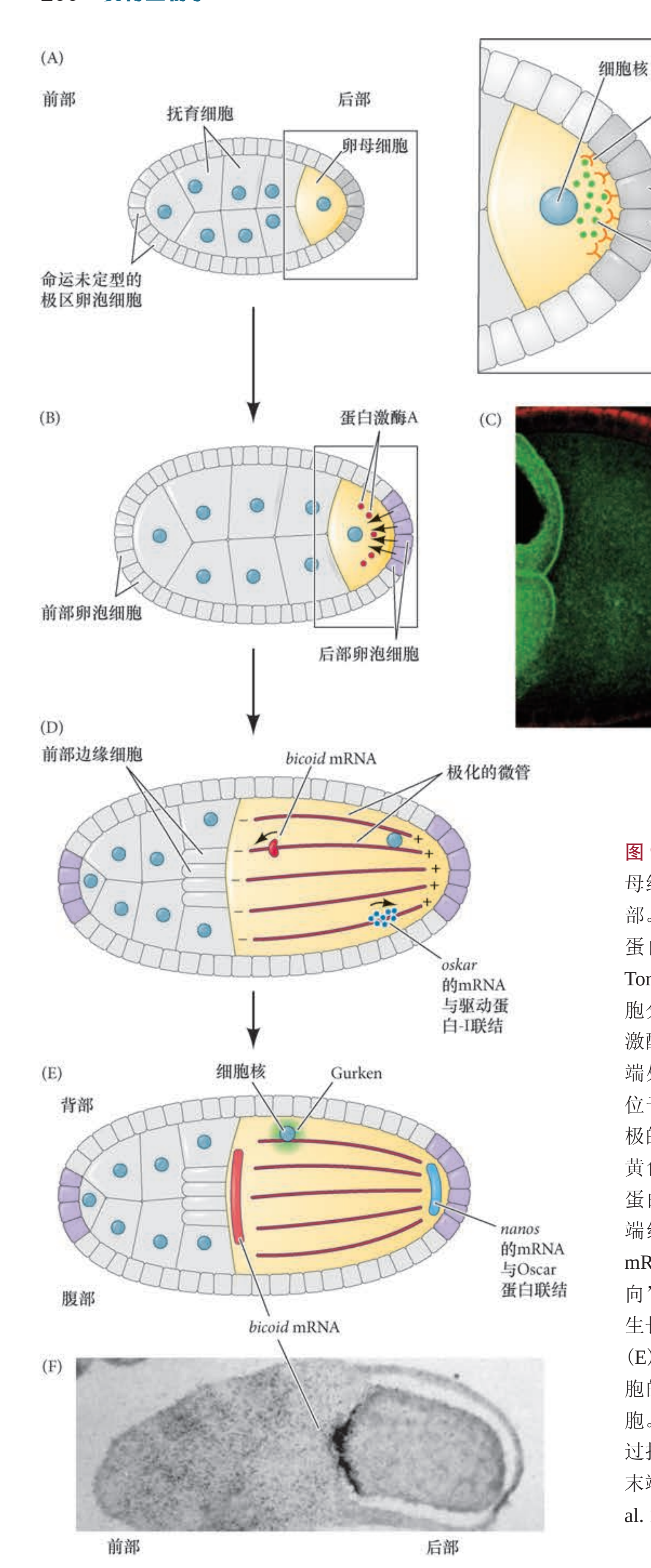


图 9.8 前 - 后轴在卵子发生过程中受到特化。(A) 卵母细胞运动到卵室的后部区域，而抚育细胞则充满了前部。卵母细胞核向末端卵泡细胞运动，并合成 Gurken 蛋白（绿色）。末端卵泡细胞表达 Gurken 的受体蛋白 Torpedo。(B) 当 Gurken 与 Torpedo 结合时，末端卵泡细胞分化成后部卵泡细胞，并合成一个能在卵中激活蛋白激酶 A 的分子。蛋白激酶 A 将微管定向，使生长（正）端处在后部（如 D 图中显示的那样）。(C) Par-1 蛋白定位于抚育细胞的皮质细胞质及卵母细胞的后极。标记后极的 Staufen 蛋白被染为红色，而红色和绿色的重叠呈现黄色荧光。(D) *bicoid* 的 mRNA 与动力蛋白结合。动力蛋白是一个“负端导向”的马达蛋白，与微管的非生长端结合，将 *bicoid* 的 mRNA 向卵的前端运输。*Oskar* 的 mRNA 与驱动蛋白 -I 结合。驱动蛋白 -I 是一个“正端导向”的马达蛋白，将 *oskar* 的 mRNA 向后部区域微管的生长端移动。在那里 Oskar 蛋白与 *nanos* 的 mRNA 结合。(E) 细胞核（及其联结的 Gurken 蛋白）沿微管向卵母细胞的背前部迁移，诱导相邻的卵泡细胞变成背部卵泡细胞。(F) 显微照片显示 *bicoid* 的 mRNA（染为黑色）经过抚育细胞，在卵子发生过程中定位于卵母细胞的前部末端 (C 图由 H. Doerflinger 提供；F 图来自 Stephanson et al. 1988，由作者提供)。

网络话题 9.3 **昆虫的信号中心**　昆虫图式形成的双信号中心的思路主要是德国胚胎学研究的产物。这一网络话题描述了实验胚胎学的观察结果如何被转变成分子生物学的问题。

表 9.1　建立果蝇胚胎前 - 后极性的母体效应基因

基因	突变体表型	推测的功能
前部组		
bicoid(*bcd*)	头和胸部缺失，被颠倒的尾节取代	梯度化的前部形态发生素；含有同源异形域；抑制 *caudal* 的 mRNA
exuperantia(*exu*)	头部前端结构缺失	锚定 *biocoid* 的 mRNA
swallow(*swa*)	头部前端结构缺失	锚定 *biocoid* 的 mRNA
后部组		
nanos(*nos*)	无腹部	后部形态发生素；抑制 *hunchback* 的 mRNA
tudor(*tud*)	无腹部、无极细胞	*nanos* 的 mRNA 定位
oskar(*osk*)	无腹部、无极细胞	*nanos* 的 mRNA 定位
vasa(*vas*)	无腹部、无极细胞，卵子发生缺陷	*nanos* 的 mRNA 定位
valois(*val*)	无腹部、无极细胞，细胞化缺陷	稳定 Nanos 蛋白定位复合物
pumilio(*pum*)	无腹部	帮助 Nanos 蛋白结合 *hunchback* 信使 RNA
caudal(*cad*)	无腹部	激活后部末端基因
末端组		
torsolike	无末端	潜在的末端形态发生素
trunk(*trk*)	无末端	向 Torso 传递 Torsolike 信号
fs(*1*)*Nasrat* [*fs*(*1*)*N*]	无末端，坍缩的卵	向 Torso 传递 Torsolike 信号
fs(*1*)*polehole* [*fs*(*1*)*ph*]	无末端，坍缩的卵	向 Torso 传递 Torsolike 信号

来源：参考 Anderson 1989。

两个母体信使 RNA——*bicoid* 和 *nanos*，分别对应于前部和后部信号中心，并启动前 - 后轴的形成。*bicoid* 信使位于靠近受精卵的前部末端，而 *nanos* 信使则位于后部末端。这种分布是卵母细胞发育过程中微管网络迅速极化的结果（见图 9.8）。在产卵和受精之后，*bicoid* 和 *nanos* 被翻译成蛋白质，在合胞体胚盘中扩散，形成了产生前 - 后轴所必需的梯度（**图 9.9**；见图 9.7B）。

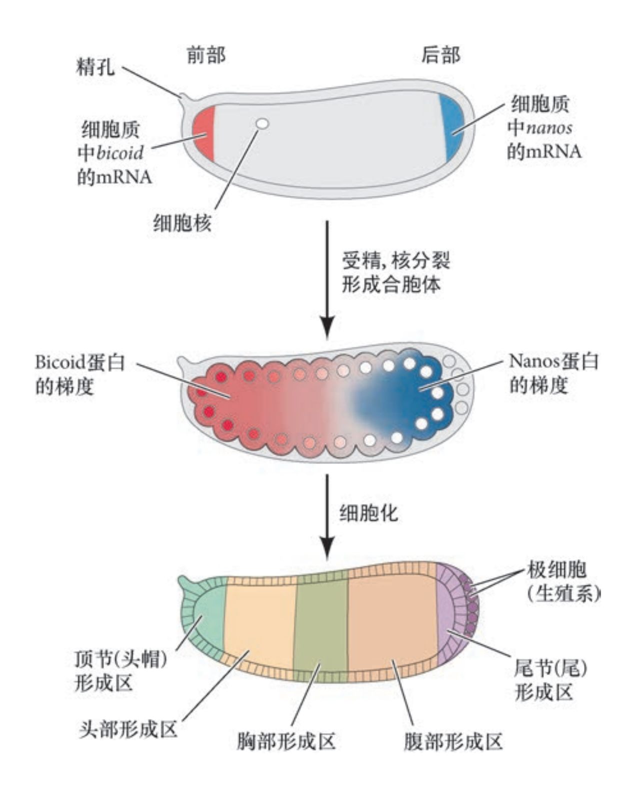


图 9.9　果蝇的合胞体特化。前 - 后轴的特化源于卵子细胞质中的形态发生素梯度。*bicoid* 的 mRNA 在卵的最前端部分被稳定，而 *nanos* 的 mRNA 被固定于后端。前端可通过卵壳上的精孔予以识别。这一结构使精子能够入卵。在产卵和受精之后，这两个 mRNA 被翻译成蛋白质。Bicoid 蛋白形成一个前端浓度最高的梯度，而 Nanos 蛋白形成一个后端浓度最高的梯度。依据其比例，这两个蛋白质形成一个协调的体系。沿前 - 后轴方向的每个位置都会因此而区别于任何其他位置。当细胞核分裂时，每个细胞核都会通过这两个蛋白质的比例而被赋予位置信息。形成这些梯度的蛋白质激活一些赋予幼体和成体果蝇分节特征的基因。

Bicoid 是前部形态发生素 Bicoid 作为果蝇头部形态发生素是由一个“发现它、失去它、移动它”的实验设计方案而被发现的（见第 7 章的发育辅导课）。Christiane Nüsslein-Volhard、Wolfgang Driever 及其同事（Driever and Nüsslein-Volhard 1988a，b；Driever et al. 1990）证明：① Bicoid 在卵中呈现一个梯度，最高浓度位于前部（头部形成）区域；②缺失 Bicoid 蛋白的胚胎不能形成头部；③当 *bicoid* 的 mRNA 被注射到缺失 Bicoid 蛋白的胚胎的不同位置时，这些部位变成头部（图 9.10）。此外，围绕 *bicoid* 注射位置的区域形成胸部，这与预期的浓度依赖性信号效应相一致。如果将 *bicoid* 的 mRNA 注射到缺失 *bicoid* 的胚胎（其母本缺失 *bicoid* 基因）的前部，因注射 mRNA 而被“拯救”的胚胎能形成正常的前 - 后极性。如果将 *bicoid* 注射到胚胎的中部，那么中部区域就会形成头部结构，而两个侧翼区域变成胸部结构。如果将大量的 *bicoid* 注射到野生型胚胎的后部末端（在胚胎前部末端具有自身的内源 *bicoid*），就会形成两个头部，即两端都有头部（Driever et al. 1990）。

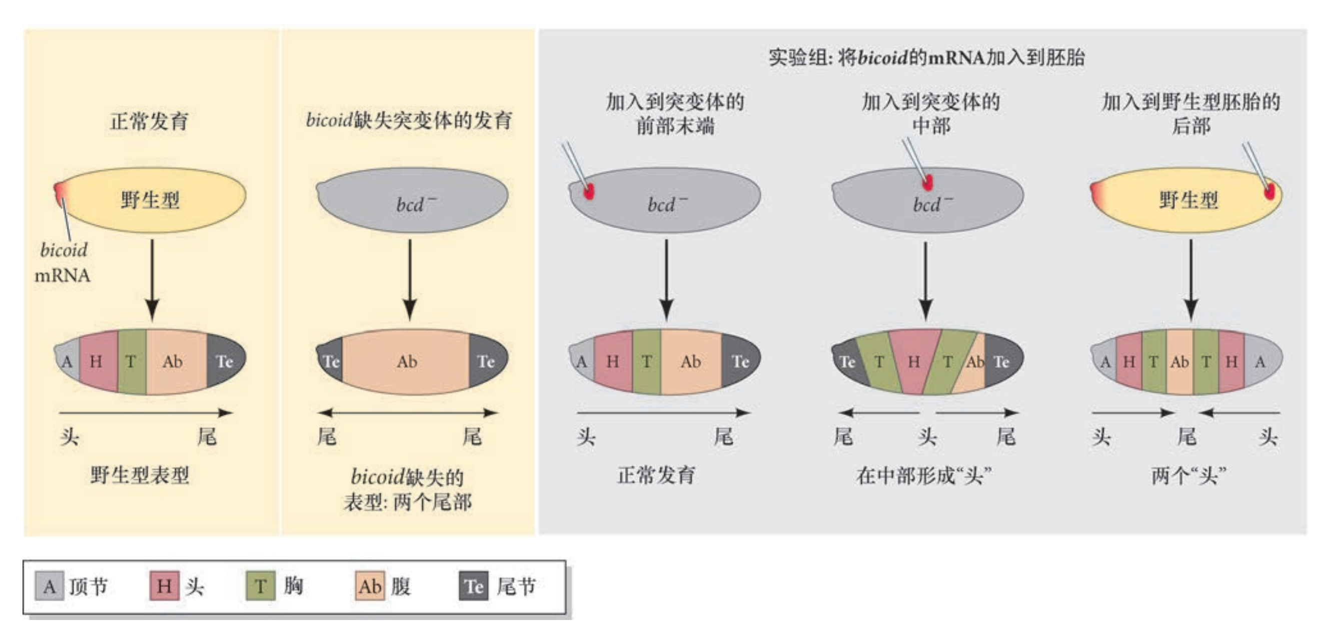


图 9.10 果蝇 *bicoid* 基因编码一个形成头部的形态发生素的实验设计示意图。左侧显示缺失 *bicoid* 和野生型胚胎的表型。如果将 *bicoid* 的 mRNA 注射到缺失 *bicoid* 的胚胎，注射的位置形成头部结构。如果将 *bicoid* 的 mRNA 注射到早期卵裂期的野生型胚胎的尾部末端，在胚胎的两极都会形成头部结构（参考 Driever et al. 1990）。

***bicoid* 的 mRNA 定位在卵母细胞前端** *bicoid* 的 mRNA 的 3′ 非翻译区（3′UTR）含有前端定位的关键序列（图 9.11；Ferrandon et al. 1997；Macdonald and Kerr 1998；Spirov et al. 2009）。在 *bicoid* 的 mRNA 还处在卵室的抚育细胞中的时候，这些序列就已经与 Exuperantia 及 Swallow 蛋白结合（Schnorrer et al. 2000）。向活体的野生型或突变体果蝇卵室中注射荧光素标记的 *bicoid* 的 mRNA，实验结果显示 Exuperantia 蛋白在抚育细胞中的表达是 *bicoid* 的 mRNA 在前部定位所必需的。但是，Exuperantia 蛋白自身不足以将 *bicoid* 的 mRNA 输送到卵母细胞（Cha et al. 2001；Reichmann and Ephrussi 2005）。*bicoid* 与 Exuperantia 形成的复合物从抚育细胞中被转运出来，通过微管进入卵母细胞，这似乎搭乘了一种驱动蛋白——腺苷三磷酸酶（Arn et al. 2003）。一旦进入卵母细胞内部，*bicoid* 的 mRNA 就附着在卵母细胞前部的微管组织中心（生长更慢的“负端”）的动力蛋白上（见图 9.8；Cha et al. 2001）。大约 90% 的 *bicoid* 的 mRNA 定位于胚胎的前 20% 处，在 7% 的卵长度处浓度最高（Little et al. 2011）。

***nanos* 的 mRNA 在卵母细胞后端定位** 后部组织中心由 *nanos* 基因的活性决定（Lehmann and Nüsslein-Volhard 1991；Wang and Lehmann 1991；Wharton and Struhl 1991）。在 *bicoid* 的 mRNA 被主动运输并与微管的前部末端绑定时，*nanos* 的 mRNA 似乎是通过被动扩散的方式在卵母细胞的后部末端被“俘

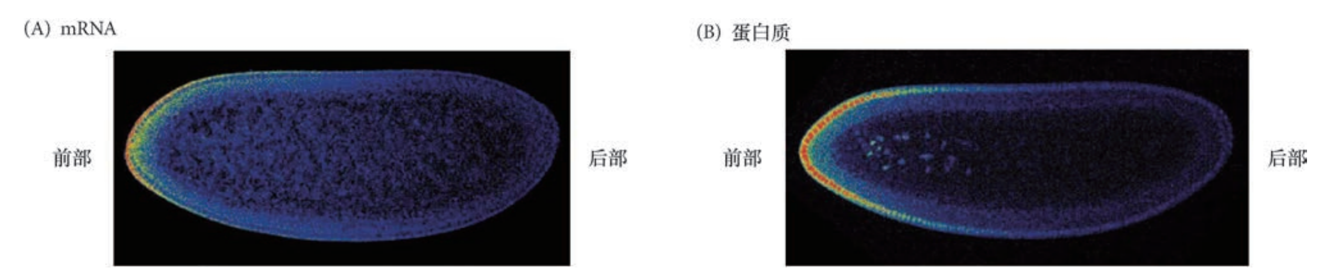


图 9.11　原位杂交和共聚焦显微技术显示 *bicoid* 的 mRNA 和蛋白梯度。(A) *bicoid* 的 mRNA 在卵母细胞前部呈现一个陡峭的梯度（从红色到绿色）。(B) 在 mRNA 被翻译后，前部细胞核中产生一个 Bicoid 蛋白的梯度。图的左侧为前部，背部朝向图的上方（参考 Spirov et al. 2009，由 S. Baumgartner 提供）。

获”。利用其 3′ 端非翻译区及其与另外几个基因 (*oskar*、*valois*、*vasa*、*staufen* 和 *tudor*)[3] 产物的结合，*nanos* 的 mRNA 被绑定在卵后部区域的细胞骨架上。如果母体中缺失 *nanos*（或者任何其他这种母体效应基因），胚胎就不能形成腹部 (Lehmann and Nüsslein-Volhard 1986；Schüpbach and Wieschaus 1986)。但是，在 *nanos* 的 mRNA 被定位之前，后部皮质必须为这个 mRNA 制造一个特异的“陷阱”，这个陷阱就是 Oscar 蛋白 (Ephrussi et al. 1991)。*oscar* 的 mRNA 和 Staufen 蛋白被驱动蛋白运输到卵母细胞的后端（见图 9.8)。在那里它们被绑定在皮质的肌动蛋白微丝上。Staufen 使 *oscar* 的 mRNA 得以翻译，然后 Oscar 蛋白与 *nanos* 的 mRNA 相结合 (Brendza et al. 2000；Hatchet and Ephrussi 2004)。

然而，大部分 *nanos* 的 mRNA 并没有被俘获。相反，它被翻译抑制因子 Smaug 和 CUP 固定在细胞质中。Smaug（是的，这一名称取自《霍比特人》中巨龙的名字）与 *nanos* 的 mRNA 的 3′ 端非翻译区结合并招募 CUP 蛋白。CUP 蛋白能阻止 mRNA 与核糖体结合，并且能招募其他一些使 mRNA 脱腺苷酸化和使其降解的蛋白质 (Rouget et al. 2010)。然而，如果 *nanos*-Smaug-CUP 复合物到达后端，Oscar 就使 CUP 脱离 Smaug，这样就会使 mRNA 固定在后部，以备翻译 (Forrest et al. 2004；Nelson et al. 2004)。

因此，在卵子发生完成时，*bicoid* 信使被锚定在卵母细胞的前部末端，而 *nanos* 信使则被固定在后端 (Frigerio et al. 1986；Berleth et al. 1988；Gavis and Lehmann 1992；Little et al. 2011)。这两种 mRNA 一直处在休眠状态，只有在产卵和受精时它们才会被翻译。因为 Bicoid 和 Nanos 蛋白产物没有被固定在细胞骨架上，它们向早期胚胎的中间区域扩散，形成建立胚胎前 - 后极性的两个反向梯度。数学模型显示，这两个梯度是通过蛋白质的扩散和主动的蛋白质降解这两种方式共同形成的 (Little et al. 2011；Liu and Ma 2011)。

特异性翻译抑制物梯度　另外，两个母体 mRNA，即 *hunchback* (*hb*) 和 *caudal* (*cad*)，分别对前部和后部区域的图式化形成至关重要 (Lehmann et al. 1987；Wu and Lengyel 1998)。这两个 mRNA 在卵巢的抚育细胞中合成后被运送到卵母细胞，在那里它们均匀地分布于整个合胞体胚盘。但是，如果它们不具有区域性分布，那么如何行使区域性图式形成的功能？事实证明，*hb* 和 *cad* 的翻译分别被 Nanos 和 Bicoid 蛋白的扩散梯度所抑制。

在前部区域，Bicoid 蛋白抑制 *caudal* 信使的翻译。Bicoid 与 *caudal* 的 3′ 端非翻译区的特定序列结合。同时，Bicoid 与 Bin3 蛋白结合。Bin3 能够稳定一个抑制性复合物，阻止 mRNA 的 5′ 端帽状结构与核糖体结合。通过招募这一翻译抑制因子，Bicoid 在胚胎的前部抑制 *caudal* 的翻译（图 9.12；Rivera-Pomar et al. 1996；Cho et al. 2006；Signh et al. 2011)。这种抑制是必要的，如果 Caudal 蛋白在胚胎的前部被合成，那么头和胸就不能正确地形成。Caudal 能够激活一些参与后肠内陷的基因，因此，它对胚胎后部区域的特化起关键的作用。

---

[3] 像 *bicoid* 信使的定位一样，*nanos* 的 mRNA 的定位也受其 3′ 端非翻译区决定。如果利用实验手段将 *bicoid* 的 3′ 端非翻译区连接到 *nanos* 的 mRNA 的蛋白编码区，那么 *nanos* 信使也会定位于卵的前部。当这一融合的 mRNA 被翻译后，Nanos 蛋白抑制 *hunchback* 和 *bicoid* 的翻译，胚胎则会形成两个腹部，一个在胚胎的前部，另一个在后部 (Gavis and Lehmann 1992)。

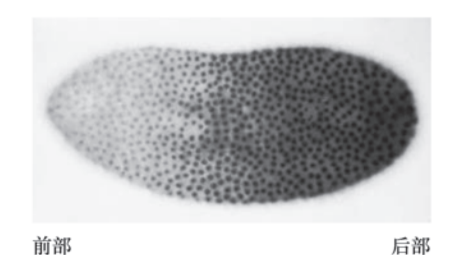


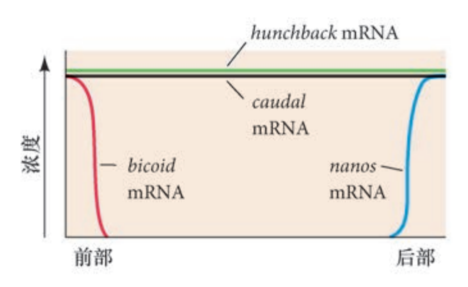
图 9.12　合胞体胚盘期的野生型果蝇胚胎中 Caudal 蛋白的梯度。左侧为胚胎前部。Caudal 蛋白（暗色）进入细胞核并帮助特化后部命运。可与图 9.22 中 Bicoid 蛋白的互补梯度进行比较（来自 Macdonald and Struhl 1986，图由 G. Struhl 提供）。

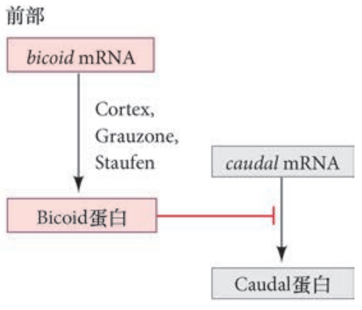
在后部，Nanos 蛋白抑制 *hunchback* 信使的翻译。Nanos 在胚胎的后部与其他几个泛表达蛋白（包括 Pumilio 和 Brat）形成复合物。这一复合物与 *hunchback* 信使的 3′ 非翻译区结合，并招募 d4EHP，阻止 *hunchback* 信使与核糖体接触（Tautz 1988；Cho et al. 2006）。

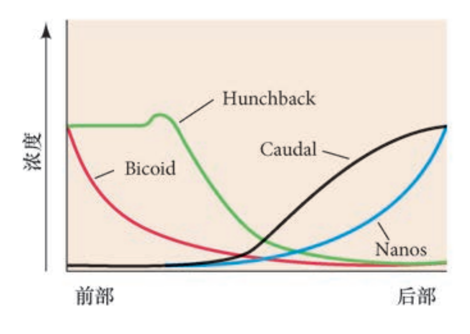
这些相互作用的结果是在早期胚胎中形成四个母体蛋白的梯度（图 9.13）：

- 一个从前到后的 Bicoid 蛋白梯度；
- 一个从前到后的 Hunchback 蛋白梯度；
- 一个从后到前的 Nanos 蛋白梯度；
- 一个从后到前的 Caudal 蛋白梯度。

这样就为昆虫胚胎中细胞核的合子基因激活做好了准备。在这四个蛋白梯度形成的同时，细胞核也在忙于分裂。







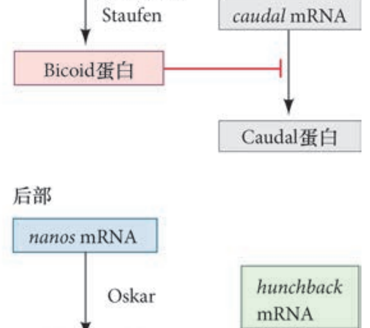


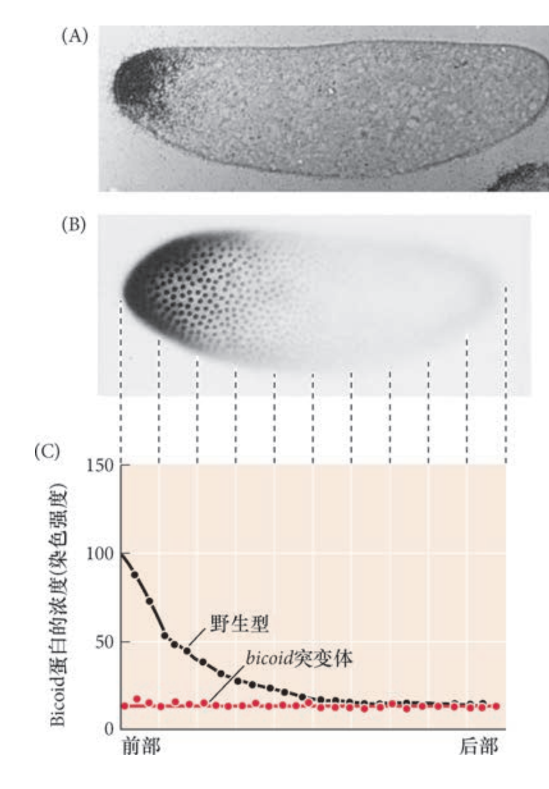
图 9.13　果蝇母体效应基因建立前 - 后轴的模式图。(A) 卵巢的抚育细胞将 *bicoid*、*nanos*、*hunchback* 和 *caudal* 的 mRNA 输送到卵母细胞。*bicoid* 信使被分隔在前部，*nanos* 定位于后端。(B) 这些蛋白质被翻译后，Bicoid 蛋白梯度从前部向后部延伸，而 Nanos 蛋白梯度从后部向前部延伸。Nanos 抑制 *hunchback* 信使的翻译（在后部），而 Bicoid 抑制 *caudal* 信使的翻译（在前部）。这种抑制形成了 Caudal 和 Hunchback 的反向梯度。由于 *hunchback* 基因在前部细胞核中转录（因为 Bicoid 是一个能激活 *hunchback* 基因转录的转录因子），Hunchback 梯度又得以增强。(C) 翻译水平上基因调节的平行互作建立果蝇胚胎的前 - 后图式 (C 图参考 Macdonald and Smibert 1996)。

科学家讲座 9.1　Eric Wieschaus 博士讨论果蝇的前 - 后发育的图式化。

9.3.3　前部组织中心：Bicoid 和 Hunchback 梯度

果蝇的 *bicoid* 突变体表型提供了有关形态发生梯度功能的重要信息（图 9.14A ～ C）。一个 *bicoid* 突变体的结构是尾节 - 腹部 - 腹部 - 尾节，而不是前部结构（顶节、头和胸）的后面跟随着腹部结构和一个尾节（图 9.14D）。看上去这些胚胎似乎缺少了形成前部结构所需的一些物质。此外，可以假设这些突变体中缺少像 Sander 和 Kalthoff 所推测的一种能开启前部结构基因同时也能关闭尾节结构基因的物质。

Bicoid 蛋白好像具有形态发生素的功能（通过不同的浓度差异性特化细胞命运的一种物质；见第 4 章）。高浓度的 Bicoid 产生前端头部结构。稍低浓度的 Bicoid 使细胞变成颚。中等浓度的 Bicoid 指令细胞变成胸部，而腹部以缺乏 Bicoid 为特征。那么，Bicoid 蛋白的浓度梯度如何控制前 - 后轴的决定？



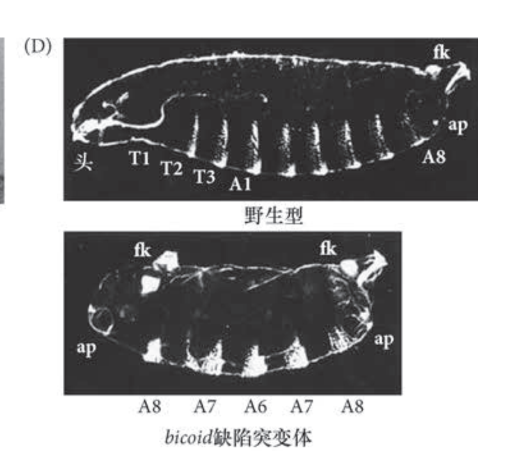


图 9.14　果蝇早期胚胎中的 Bicoid 蛋白梯度。(A) *bicoid* 的 mRNA 以一个陡峭的梯度定位在胚胎的前端。(B) 受精后 Bicoid 蛋白的梯度，在前部的浓度最高，在后部消失。而且，Bicoid 蛋白富集在细胞核内。(C) Bicoid 蛋白的光密度扫描。上部的曲线（黑色）代表 Bicoid 在野生型胚胎中的梯度。下部的曲线（红色）代表 Bicoid 在 *bicoid* 突变体胚胎中的梯度。(D) 野生型胚胎和来自 *bicoid* 突变体雌性果蝇的胚胎之间外皮表型的比较。突变体胚胎受到严重影响，头和胸被第二组后部尾节结构所取代，简略为 fk (filzkörper) 和 ap（肛板）(A 图来自 Kaufman et al. 1990；B 图和 C 图来自 Driever and Nüsslein Volhard 1988b；D 图来自 Driever et al. 1990；由作者提供）。

Bicoid 的主要功能是作为一个转录因子在胚胎的前部激活一些靶基因的表达 [4]。第一个被发现的 Bicoid 靶基因是 *hunchback* (*hb*) 基因。在 20 世纪 80 年代后期，两个实验室独立地发现了 Bicoid 结合并激活 *hb* 基因 (Driever and Nüsslein-Volhard 1989；Struhl et al. 1989；Wieschaus 2016)。依赖于 Bicoid 的 *hb* 基因转录仅见于胚胎的前半部分（即具有 Bicoid 的部分）。Driever 及其同事 (1989) 预料，除了 *hb* 以外，Bicoid 必定也激活其他一些前部基因。首先，*hb* 的缺失仅产生 *bicoid* 突变体表型中的部分缺陷。其次，头部的形成比胸部的形成需要更高浓度的 Bicoid。现在我们知道 Bicoid 也激活其他一些形成头部的靶基因，如 *buttonhead*、*empty spiracles* 和 *orthodenticle*，它们在胚胎前部的特定区室内表达 (Cohen and Jürgens 1990；Finkelstein and Perrimon 1990；Grossniklaus et al.1994)。Driever 及其同事 (1989) 也预测，这些头部特异基因的启动子可能具有亲和力较低的 Bicoid 结合位点，导致它们只能被极高浓度的 Bicoid 蛋白所激活，也就是在靠近胚胎前端的位置。这些基因的激活除了需要高水平的 Bicoid 以外，它们的转录还需要 Hunchback 蛋白 (Simpson-Brose et al. 1994；Reinitz et al. 1995)。Bicoid 和 Hunchback 在这些"头部基因"的增强子上协同作用，以正反馈的方式促进它们的转录。


科学家讲座 9.2　Eric Wieschaus 博士在两段视频中讨论 Bicoid 梯度的稳定性及其在果蝇进化中的作用。

在胚胎的后半部分，Caudal 蛋白梯度也激活一些合子基因，包括裂隙基因 *knirps* (*kni*) 和 *giant* (*gt*)，两者都是腹部发育的关键基因 (Rivera-Pomar et al. 1995；Schulz and Tautz 1995)。由于 Bicoid 蛋白的第二个功能是抑制 *caudal* 的翻译，所以在胚胎的前部没有 Caudal 蛋白。因此，形成后部的基因在这一区域不能被激活。

---

[4] *bicoid* 好像是在双翅目谱系（具有双翅的昆虫，如果蝇）进化过程中出现的一个比较"新"的基因；目前尚未在其他昆虫谱系中发现这个基因。其他昆虫类群中的前部决定因子包括 Orthodenticle 和 Hunchback 蛋白，两者都能在果蝇胚胎的前部被 Bicoid 诱导 (Wilson and Dearden 2011)。

9.3.4 末端基因

除了前部和后部形态发生素以外，还有第三组母体基因，其蛋白质参与形成前 - 后轴的两个不分节末端：头部末端部分（包括脑）的**顶节**（**acron**）和尾端的**尾节**（**telson**）。这些末端基因的突变会造成顶节、最前部头节、尾节和最后部腹节的缺失（Degelmann et al. 1986；Klingler et al. 1988）。

网络话题 9.4 **末端基因** 这个话题提供了这些基因的更多细节，包括躯体两个末端如何以不同于中间躯干体节的方式受到特化，以及 Bicoid 蛋白如何帮助决定哪个末端变成前端。

9.3.5 果蝇早期前 - 后轴特化的总结

果蝇胚胎的前 - 后轴受三组基因的特化：

1. **限定前部组织中心的基因**。位于胚胎前部末端的前部组织中心通过 Bicoid 蛋白的一个梯度发挥作用。Bicoid 既作为一个转录因子激活前部特异性的裂隙基因，也作为一个翻译抑制因子抑制后部特异性的裂隙基因。
2. **限定后部组织中心的基因**。后部组织中心位于后端。这一中心通过 Nanos 蛋白在翻译水平上抑制前部的形成，通过 Caudal 蛋白在转录水平上激活形成腹部的基因。
3. **限定末端边界区域的基因**。顶节和尾节的边界受 *torso* 基因的产物所限定。这个基因在胚胎的末端被激活。

发育的下一步是利用这些转录因子的梯度沿前 - 后轴方向激活特定的基因。

9.4 分节基因

果蝇中细胞命运的定型似乎有两个步骤：特化和决定（Slack 1983）。在果蝇的早期发育过程中，细胞的命运依赖于蛋白梯度所提供的信息。这种细胞命运的特化是可变的，仍能够对来自其他细胞的信号做出应答而发生变化。然而，细胞最终会从这种可塑性的定型转变到不可逆转的命运决定。这时，一个细胞的命运就变成了细胞的内在特性[5]。

在果蝇中从特化到决定的转变受**分节基因**（**segmentation gene**）调控。分节基因将早期胚胎沿前 - 后轴分成一系列重复的分节原基。分节基因最初是通过干扰躯体图式的合子突变而被鉴别出来的。根据它们所产生的突变表型可将这些基因分为三组（**表 9.2**；Nüsslein-Volhard and Wieschaus 1980）：

- 裂隙基因突变体中缺失躯体的大部分区域（几个连续的体节；**图 9.15A**）；
- 成对规则基因突变体中每隔一个体节缺失一部分（**图 9.15B**）；
- 体节极性基因突变体中的每个体节都表现出缺陷，如缺失、重复、极性反转（**图 9.15C**）。

9.4.1 体节和副体节

分节基因的突变导致果蝇胚胎缺失某些体节或者体节的一部分。然而，早期的研究人员也在这些突变中发现了令人惊讶的一面：许多突变并不影响成体的体节；相反，它们只是影响了一个体节的后部区室和下一个后部体节的前部区室（**图 9.16**；Martinez-Arias and Lawrence 1985）。这些“跨节”的单元被称为**副体节**（**parasegment**）。

[5] 信息论的拥护者们将认识到，形态发生梯度的前 - 后极性信息被传递到不连续且不同副体节的过程代表了从模拟特化到数字特化的转换。特化是模拟的，而决定是数字化的。这一过程使合胞体胚盘中梯度的短暂信息被稳定，从而能被用于很晚期的发育（Baumgartner and Noll 1990）。

表 9.2 果蝇中影响分节图式的一些主要基因

分类	基因名称
裂隙基因	*Krüppel* (*Kr*)
	knirps (*kni*)
	hunchback (*hb*)
	giant (*gt*)
	tailless (*tll*)
	huckebein (*hkb*)
	buttonhead (*btd*)
	empty spiracles (*ems*)
	orthodenticle (*otd*)
成对规则基因（初级）	*hairy* (*h*)
	even-skipped (*eve*)
	runt (*run*)
成对规则基因（次级）	*fushi tarazu* (*ftz*)
	odd-paired (*opa*)
	odd-skipped (*odd*)
	sloppy-paired (*slp*)
	paired (*prd*)
体节极性基因	*engrailed* (*en*)
	wingless (*wg*)
	cubitus interruptus (*ci*)
	hedgehog (*hh*)
	fused (*fu*)
	armadillo (*arm*)
	patched (*ptc*)
	gooseberry (*gsb*)
	pangolin (*pan*)

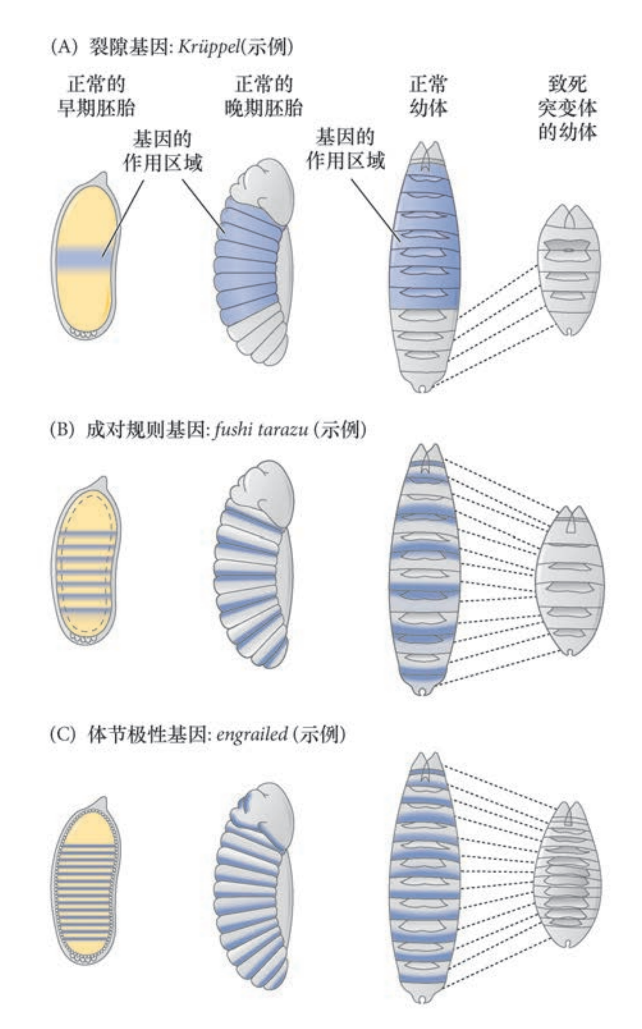


图 9.15 三种类型的分节基因突变。左侧是卵裂早期的胚胎（黄色），显示野生型胚胎中特定基因的正常转录区域（蓝色）。当突变体发育至晚期胚胎时，这些区域缺失。

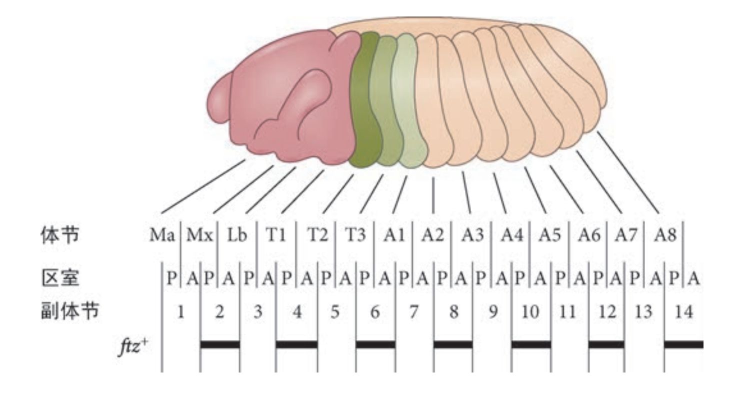


图 9.16 果蝇胚胎的副体节相对于体节向前移动了一个区室。Ma、Mx 和 Lb 分别代表下颚、上颚和唇部的头节；T1 ～ T3 是胸节；A1 ～ A8 是腹节。每个体节具有一个前部（A）区室和一个后部（P）区室。每个副体节（编号 1 ～ 14）由一个体节的后区室和后一个体节的前区室组成。黑色条带表示 *ftz* 基因的表达边界，这些区域在 *fushi tarazu*（*ftz*）突变体中缺失（见图 9.15B）（参考 Martinez-Arias and Lawrence 1985）。

在具备检测基因表达图式的手段之后，人们发现早期胚胎的基因表达图式是由副体节边界而非体节边界所界定。因此，副体节好像是胚胎基因表达的基本单元。尽管在成体果蝇的神经索中也可见到副体节的组织化，但在成体表皮（分节最明显的组织）和肌肉组织中却不存在。这些成体结构沿体节的图式被组织起来。在果蝇中，当胚带回缩时，表皮的分节沟开始出现；形成肌肉的中胚层在发育的晚期开始分节。

我们可以认为体节和副体节的组织化体系是以不同的方式沿胚胎前 - 后轴组织一些区室。一个区室

的细胞与相邻区室的细胞互不混合，并且副体节和体节被一个区室隔开 [6]。

9.4.2 裂隙基因

裂隙基因受母体效应基因激活或抑制，并且沿前 - 后轴在一个或两个很宽的区域内表达。这些表达图式与裂隙基因突变体胚胎中缺失的区域十分吻合。例如，*Krüppel* 主要在 4 ～ 6 副体节中表达，处于胚胎的中间位置（见图 9.7C 和图 9.15A）。缺失 Krüppel 蛋白时，胚胎的这些部分就会缺失。

裂隙基因 *hunchback*、*Krüppel* 和 *knirps* 的突变所造成的缺失跨越果蝇胚胎的整个分节区域。裂隙基因 *giant* 与这三个基因相互重叠，而裂隙基因 *tailless* 和 *huckebein* 在靠近胚胎前后两端的区域内表达。总之，躯干部分的四个裂隙基因具有足够的特异性，能限定一个细胞的位置，使其沿胚胎前 - 后轴方向所处的位置仅出现大约 1% 的误差。利用这些裂隙基因产物之间的相互作用，每个细胞都被赋予一个独特的空间特异性（Dubuis et al. 2013）。

这些裂隙基因具有高度动态的表达图式。它们通常在整个胚胎内呈现低水平的转录活性。当核分裂继续进行时，它们的表达呈现出不连续的高活性区域（Jäckle et al. 1986）。Hunchback 的梯度对建立裂隙基因的初始表达图式尤其重要。在核分裂的第 12 个周期结束时，Hunchback 在胚胎的前部呈现高水平的表达。然后，Hunchback 在接近胚胎中部的大约 15 个细胞核处形成一个陡峭的梯度（见图 9.7C 和图 9.13B）。这时，在胚胎的后 1/3 处检测不到 Hunchback 的表达。

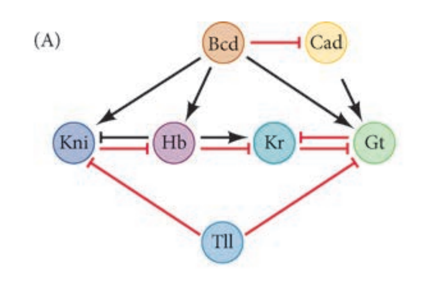
前部裂隙基因的转录图式被 Hunchback 和 Bicoid 蛋白的不同浓度所启动。高水平的 Bicoid 和 Hunchback 诱导 *giant* 的表达，而 *Krüppel* 的转录物出现在 Hunchback 开始下降的区域。高水平的 Hunchback（在没有 Bicoid 的情况下）也抑制后部裂隙基因（如 *knirps* 和 *giant*）在胚胎前部的转录（Struhl et al. 1992）。最高浓度处于后端的 Caudal 蛋白梯度可能在胚胎后部激活腹部裂隙基因 *knirps* 和 *giant*。因此，*giant* 基因具有两种激活方式（Rivera-Pomar 1995；Schulz and Tautz 1995）：一种是 Bicoid 和 Hunchback 激活其前部的表达，另一种是 Caudal 激活其后部的表达。

在母体效应梯度和 Hunchback 建立了初步的裂隙基因表达图式之后，不同裂隙基因产物之间的抑制性相互作用稳定并维持它们的表达。这些相互作用因为发生在尚无细胞膜形成的合胞体中而被进一步促进。边界形成的抑制可能直接受控于裂隙基因的产物，因为所有四个主要的裂隙基因（*hunchback*、*giant*、*Krüppel* 和 *knirps*）都编码 DNA 结合蛋白（Knipple et al. 1985；Gaul and Jäckle 1990；Capovilla et al. 1992）。**图 9.17A** 显示遗传学实验、生化分析和数学模拟所建立的一个模型（Papatsenko and Levine 2011）。这一模型描述了具有三个切换开关的网络（**图 9.17B ～ D**）。其中的两个是 Hunchback 和 Knirps 之间，以及 Giant 和 Krüppel 之间的强烈相互抑制（Jaeger et al. 2004）。第三个是 Hunchback 和 Krüppel 之间的浓度依赖性相互作用。在高浓度的情况下，Hunchback 抑制 Krüppel 蛋白的产生，但在中等水平下（处在大约 50% 胚胎长度的位置），Hunchback 则促进 Krüppel 蛋白的形成（见图 9.17C）。

这些抑制性相互作用的最终结果是形成了一个 mRNA 表达图式相互重叠的精确体系。每个区域都是一个使裂隙蛋白扩散到邻近胚胎区域的来源。因此，在相邻的裂隙蛋白表达区域之间形成了一个显著重叠的区域（至少有 8 个细胞核，大致相当于两个体节原基）。Stanojeíc 及其同事（1989）利用一种引人注目的方式显示了这一效应。他们将细胞化的胚盘固定（见图 9.2），然后用携带红色染料的抗体将 Hunchback 蛋白染色，同时用携带绿色染料的抗体将 Krüppel 蛋白染色。具有这两个蛋白质的细胞化区域同时与两种抗体结合，呈现出明亮的黄颜色（见图 9.7C）。在胚胎的后部区域，Krüppel 以相似的方式与 Knirps 发生重叠（Pankratz et al. 1990）。这些表达图式的精确性因为有一些冗余增强子的存在而得以维持。如果一个增强子失去作用，其他增强子将很可能仍会发挥功能（Perry et al. 2011）。

---

[6] 两种分节的方式可能是协调成体果蝇运动的需要。在节肢动物中，副体节组织形成腹部神经索的神经节，而外皮沟和肌肉是体节部分。这种每个区室的同框位移可使任何特定表皮体节两侧的肌肉受同一神经节协调。相应地，这也会产生迅速和协调的肌肉收缩运动（Deutsch 2004）。脊椎动物也有类似的情形，就是前部体节的后部与下一个体节的前部整合在一起。



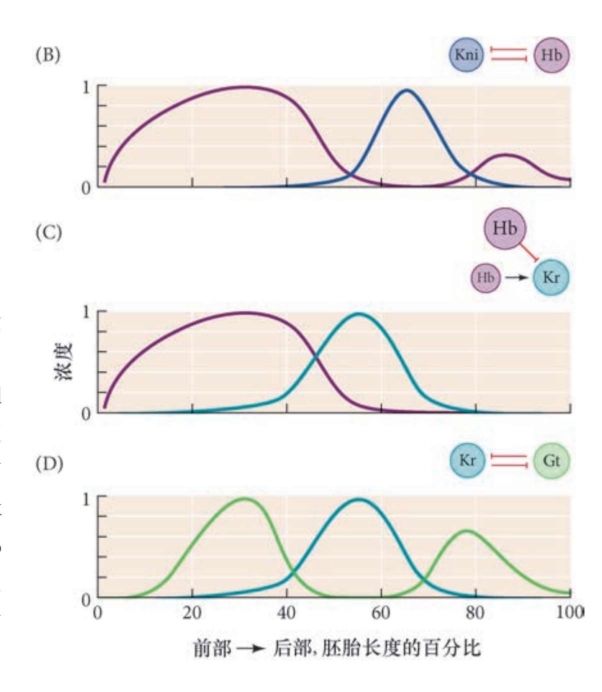


图 9.17　裂隙基因网络的结构。数学模拟、遗传学数据及生化实验分析都支持这些相互作用。(A) Bicoid (Bcd) 和 Caudal (Cad) 的前后梯度调节 Knirps (Kni)、Hunchback (Hb)、Krüppel (Kr；可被 Bicoid 和 Caudal 蛋白微弱激活）和 Giant (Gt) 的表达。Tailless (Tll) 在胚胎的末端抑制这些图式形成途径。(B～D) 三个“切换开关”沿前 - 后轴被激活，建立裂隙基因的表达区域。(B) Knirps 和 Hunchback 之间的相互抑制使得 Knirps 蛋白的表达处在前 - 后轴 60%～80% 的区域。(C) 高浓度的 Hunchback 抑制 Krüppel 的表达，但中浓度则促进其表达。(D) Krüppel 和 Giant 相互抑制彼此的合成（参考 Papatsenko and Levine 2011）。

9.4.3　成对规则基因

果蝇胚胎开始分节的第一个迹象是在第 13 次核分裂期间细胞在胚胎周缘开始形成时成对规则基因的表达。这些基因的转录图式将胚胎分成不同的区段，是躯体分节图式的前体。如图 9.18（及图 9.7D）所示，一个由细胞核组成的垂直条带（细胞刚开始形成）表达一个成对规则基因，而下一个细胞核条带不表达这个基因，但接着下一个条带又表达此基因。这样一个沿前 - 后轴形成的“斑马条纹”状图式将胚胎分成 15 个亚单元 (Hafen et al. 1984)。目前已知有 8 个基因能通过这种方式将胚胎分区，它们彼此重叠，从而赋予副体节中的每个细胞一组特定的转录因子（见表 9.2）。

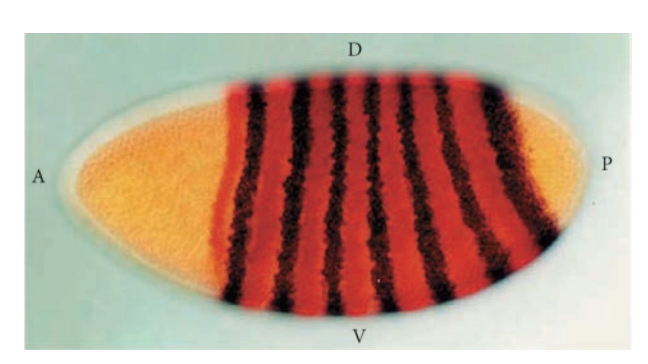


图 9.18　果蝇胚盘中成对规则基因 *even-skipped*（红色）和 *fushi tarazu*（黑色）的信使 RNA 的表达图式。每个基因分别在 7 个条带中表达。图的左侧表示胚胎前部，背部朝上。A，前部；P，后部；D，背部；V，腹部（由 S. Small 提供）。

初级成对规则基因包括 *hairy*、*even-skipped* 和 *runt*，每个基因都在 7 个条带中表达。这三个基因都从零开始建立它们的条纹表达图式，并且在每个条纹中使用不同的增强子和调节机制。这些增强子经常是模块化的，在每个条带中表达的调控位于 DNA 的离散区域。这些 DNA 区域通常含有裂隙蛋白所识别的结合位点。因此，通常认为裂隙蛋白的不同浓度决定成对规则基因是否被转录。

研究得最透彻的初级成对规则基因之一是 *even-skipped*（图 9.19）。其增强子区域由模块化单元组成，使得每个增强子各自调节一个或者一对条带。例如，*even-skipped* 的条带 2 受控于一个 500 碱基对的区域，这个区域被 Bicoid 和 Hunchback 蛋白激活，也被 Giant 和 Krüppel 蛋白抑制（图 9.20；Small et al. 1991，1992；Stanojevíc et al. 1991；Janssens et al. 2006）。前部边界受到 Giant 的抑制作用而得以维持，而后部边界被 Krüppel 维持。DNA 酶 I 足迹法显示，调控这一条带的最小增强子区域含有 5 个 Bicoid 结合位点、1 个 Hunchback 结合位点、3 个 Krüppel 结合位点及 3 个 Giant 结合位点。因此，这一区域可能具有开关的作用，直接感受这些蛋白质的浓度，决定基因转录的开启或关闭。

生物化学和遗传学手段都显示出这些增强子元件的重要性。第一，一个特定增强子的突变能使它的

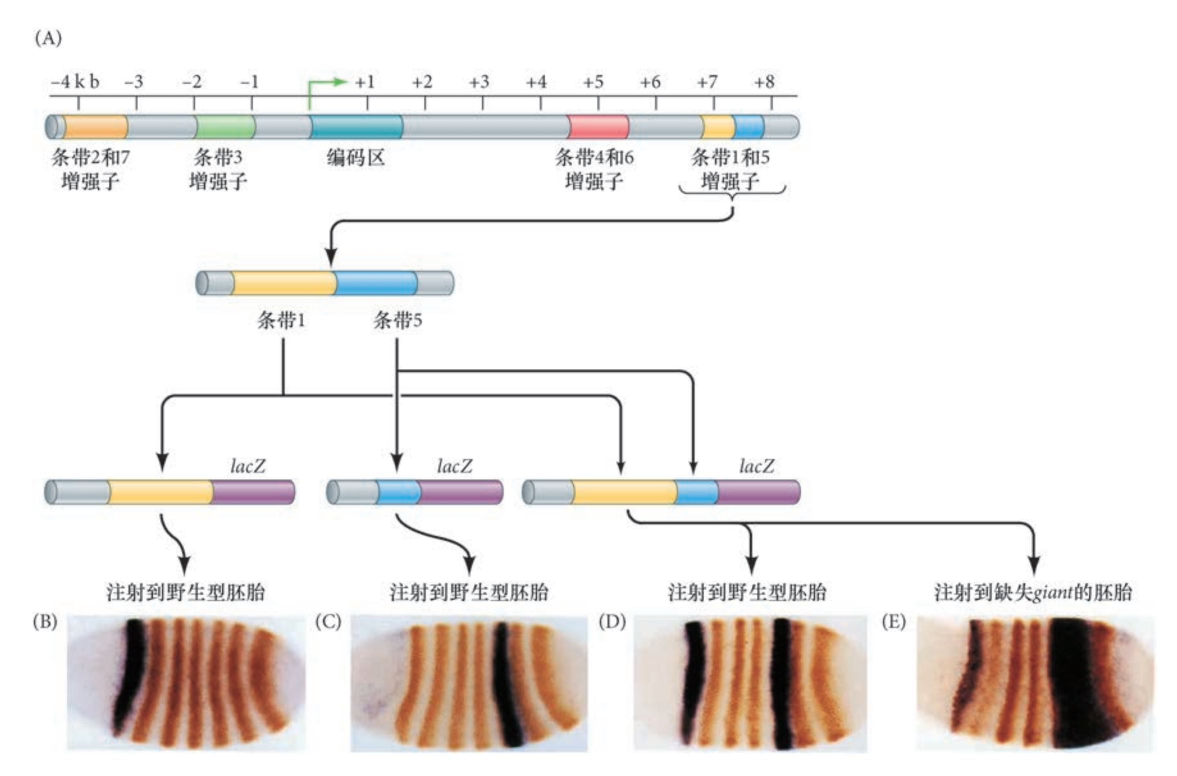


图 9.19 *even-skipped*（*eve*）基因上的特定启动子区域在胚胎中调控特异的转录条带。（A）*eve* 启动子的部分图谱，显示不同转录条带的调节区域。（B ～ E）将 β- 半乳糖苷酶报道基因（*lacZ*）与 *eve* 启动子的不同区域融合，而后注射到果蝇胚胎。将胚胎染色后（橙色条带）检测 β- 半乳糖苷酶的表达。（B ～ D）注射 *lacZ* 转基因的野生型胚胎。各种转基因分别含有条带 1（B）、条带 5（C）或者两个条带（D）的特异增强子区域。（E）将调控条带 1 和 5 的增强子注射到缺失 *giant* 的胚胎。在这种情况下，条带 5 的后部边界丢（参考 Fujioka et al. 1999 and Sackerson et al. 1999；照片由 M. Fujioka 和 J. B. Jaynes 提供）。

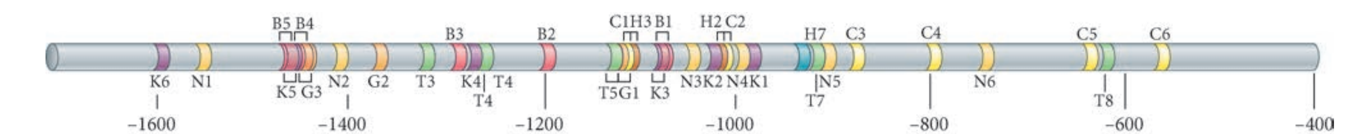
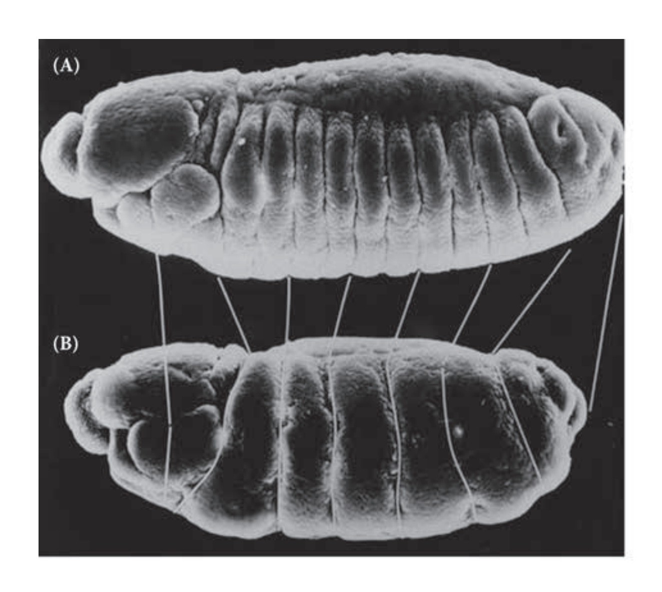
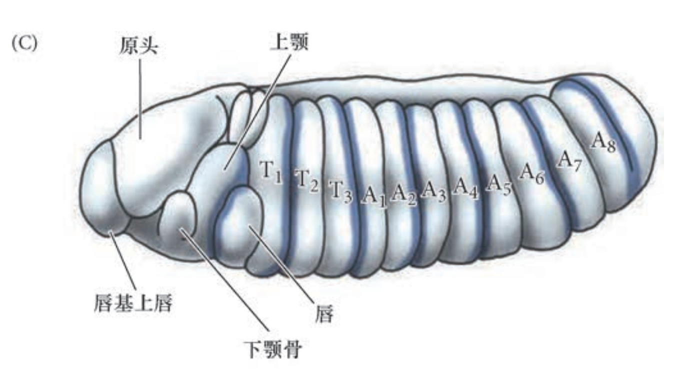


图 9.20 从 *even-skipped* 基因产生第二个转录条带的模型。调节条带 2 的增强子元件上含有一些母体和裂隙基因的蛋白结合位点。激活物（如 Bicoid 和 Hunchback）标注在线条的上部，阻遏物（如 Krüppel 和 Giant）标注在下部。几乎每个激活物的位点都紧邻一个阻遏物的位点，暗示在这些位置上可能会发生竞争性相互作用。此外，一个对条带 2 是阻遏物的蛋白质可能对条带 5 是激活物，取决于它的相邻位置上所结合的蛋白质。B，Bicoid；C，Caudal；G，Giant；H，Hunchback；K，Krüppel；N，Knirps；T，Tailless（参考 Janssens et al. 2006）。

特定条带而不是其他条带缺失。第二，如果将报道基因（如编码 β- 半乳糖苷酶的 *lacZ*）与其中一个增强子相融合，这个报道基因仅在特定的条带中表达（见图 9.19；Fujioka et al. 1999）。第三，这些条带的位置能通过删除调节它们的裂隙基因而被改变。因此，这些转录条带的位置是如下因素的结果：①成对规则基因的模块化顺式调节性增强子元件；②与这些增强子位点结合的反式调节性裂隙基因和母体基因的蛋白质。

一旦被裂隙基因的蛋白质所启动，初级成对规则基因的转录图式通过它们的基因产物之间的相互作用而变得稳定（Levine and Harding 1989）。初级成对规则基因也能形成一个环境，允许或者抑制发挥后期作用的次级成对规则基因的表达，如 *fushi tarazu*（图 9.21）。所有 8 个已知的成对规则基因都以条带图式表达，但这些图式又互不重合。相反，副体节中的每一列细胞核都独具一组成对规则基因的产物，使之有别于任何其他列的细胞核。这些产物激活下一层次的分节基因，即体节极性基因。





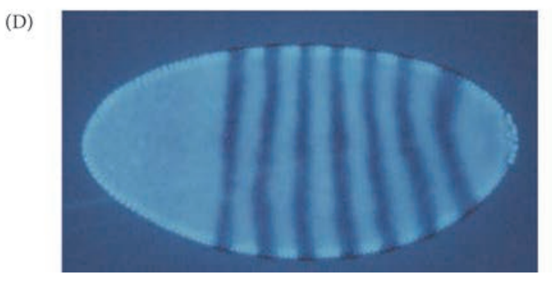


图 9.21　次级成对规则基因 *fushi tarazu* 突变体的发育缺陷。图的左侧是胚胎的前部，背部朝上。(A) 野生型胚胎的扫描电镜图，侧面观。(B) 相同发育时期的 *fushi tarazu* 突变体胚胎。白色线连接分节的胚带的同源部分。(C) 野生型胚胎的分节示意图。紫色阴影区域显示突变体胚胎中缺失的胚带副体节。(D) *fushi tarazu* 基因的转录图式（参考 Kaufman et al. 1990；A 图和 B 图由 T. Kaufman 提供；D 图由 T. Karr 提供）。

9.4.4　体节极性基因

到目前为止，我们讨论了合胞体胚胎内分子的相互作用。然而，一旦细胞形成，它们之间就会发生相互作用。这些相互作用由体节极性基因调控，并完成两项任务：第一，加强早期转录因子建立的副体节周期性；第二，通过细胞与细胞之间的信号传递，建立每个副体节中细胞的命运。

体节极性基因编码的蛋白质是 Wnt 和 Hedgehog 信号途径的成员 (Ingham 2016)。这些基因的突变导致分节缺陷和每个副体节中基因表达图式的改变。正常图式的发育需要每个副体节中仅有一列细胞能表达 Hedgehog 蛋白，也仅有一列细胞能表达 Wingless 蛋白 (Wingless 是果蝇中的 Wnt 蛋白)。这一图式形成的关键是在表达 Hedgehog 的细胞中激活 *engrailed*(*en*) 基因。*engrailed* 在 Even-skipped、Fushi tarazu 或者 Paired 转录因子表达水平高的细胞中被激活，但在 Odd-skipped、Runt 或 Sloppy-paired 蛋白表达水平高的细胞中受到抑制。因此，Engrailed 蛋白沿胚胎的前 - 后轴方向在 14 个条带中表达（见图 9.7E)。的确，在缺失 *ftz* 的胚胎中，*engrailed* 仅在 7 个条带中表达。

那些 *engrailed* 的转录条带标志每个副体节的前部区室（以及每个体节的后部区室）。在极少或者没有 Even-skipped 或 Fushi tarazu 蛋白，但有 Sloppy-paired 蛋白的细胞条带中，*wingless*(*wg*) 基因被激活。这一图式使得 *wingless* 只能在紧邻 *engrailed* 转录条带前部的那一纵列细胞中表达（**图 9.22A**)。

一旦 *wingless* 和 *engrailed* 在相邻细胞中的表达图式得以建立，这些图式还必须予以维持，以保持躯体图式中副体节的周期性。我们应该记得，参与启动这些图式的一些 mRNA 和蛋白质的寿命很短，并且这些图式在它们的引发物不再合成之后仍需要被维持下来。这些图式的维持受相邻细胞之间的相互作用所调节。分泌 Hedgehog 蛋白的细胞在相邻的细胞中激活 *wingless* 的表达，Wingless 信号被分泌 Hedgehog 的细胞接收后维持 *hedgehog*(*hh*) 表达（**图 9.22B**)。Wingless 蛋白也以自分泌的作用方式维持自身的表达 (Sánchez et al. 2008)。

在转录 *wingless* 基因的细胞中，*wingless* 的 mRNA 被其 3′ 非翻译区转移到细胞的顶端 (Simmonds et al. 2001；Wilkie and Davis 2001)。在顶端处，*wingless* 信使的翻译所产生的蛋白质从细胞中分泌出来。

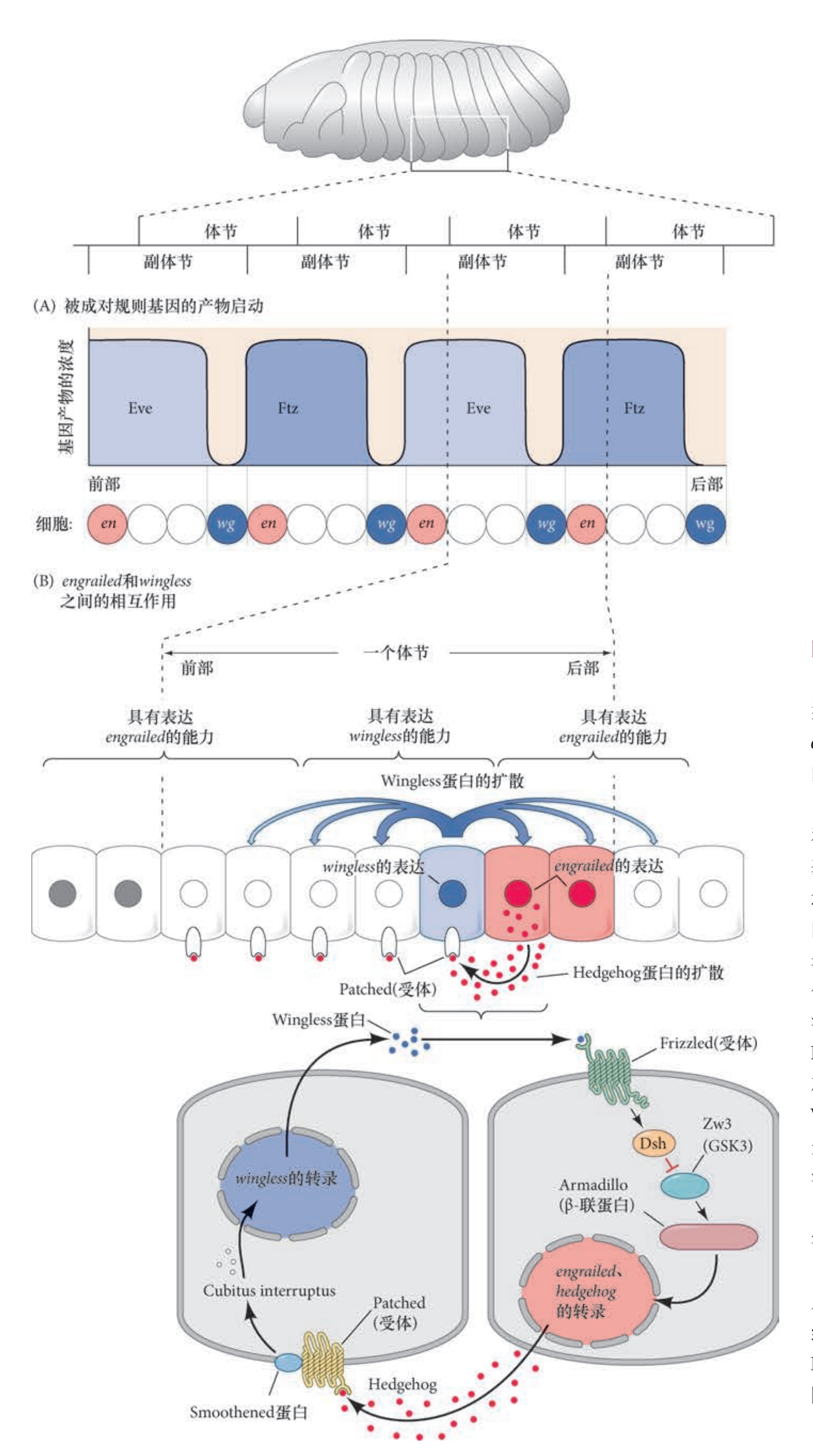


图 9.22 体节极性基因 *engrailed*（*en*）和 *wingless*（*wg*）的转录模型。（A）成对规则基因启动 *wg* 和 *en* 的表达。*en* 基因在具有高浓度的 Even-skipped 或 Fushi tarazu 蛋白的细胞中表达。*wg* 基因在 *eve* 和 *ftz* 基因都不表达，但在另一个基因（可能是 *sloppy-paired*）表达的细胞中被转录。（B）*wg* 和 *en* 的持续表达由表达 Engrailed 和表达 Wingless 的细胞之间的相互作用来维持。Wingless 蛋白被分泌后扩散到周围的细胞。在具有 Engrailed 表达能力的细胞中（也就是具有 Eve 或者 Ftz 蛋白），Wingless 被 Frizzled 和 Lrp6 受体蛋白结合，通过 Wnt 信号途径激活 *en* 基因。Armadillo 是 β- 联蛋白的果蝇名称。Engrailed 蛋白激活 *hedgehog* 基因的转录，也激活自身（*en*）的转录。Hedgehog 蛋白从这些细胞中扩散出来，与相邻细胞上的 Patched 受体蛋白结合。Hedgehog 信号使 *wg* 基因转录和随后的 Wingless 蛋白分泌。详尽内容可参考 Sánchez et al. 2008。

因为表达 *engrailed* 基因的细胞具有果蝇 Wingless 的膜受体蛋白 Frizzled，所以这些细胞能够与 Wingless 结合（Bhanot et al. 1996）。Wingless 与 Frizzled 的结合激活 Wnt 信号途径，导致 *engrailed* 的持续表达（Siegfried et al. 1994）。以这种方式，这两种细胞类型中的转录图式便得以稳定。这一相互作用形成了一个稳定的边界及一个信号中心。Hedgehog 和 Wingless 蛋白能够从此中心进行跨越副体节的扩散。

这些蛋白质的扩散可能提供一些蛋白梯度，使副体节的细胞获得它们的特征。这一过程可在背部表皮中观察到，其中几排幼体细胞产生不同的表皮结构，取决于它们在体节中的位置。1° 排细胞是一些大而具有色素的钉状细胞，称为齿状细胞。在这些细胞的后部，2° 排细胞产生平滑的表皮。接下来是具有 3° 排命运的两排细胞，它们形成小而粗的毛。在这些细胞之后是几排接受 4° 排命运的细胞，它们形成细的毛（**图 9.23**）。

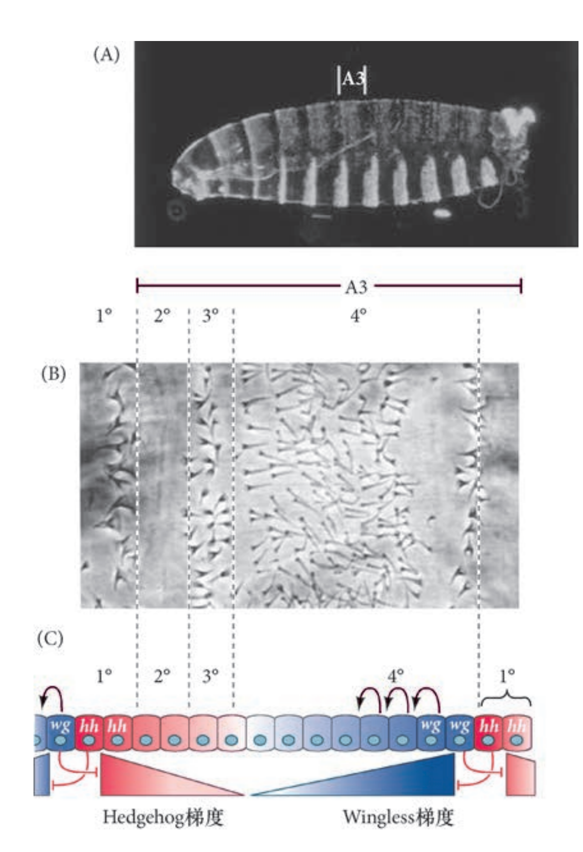
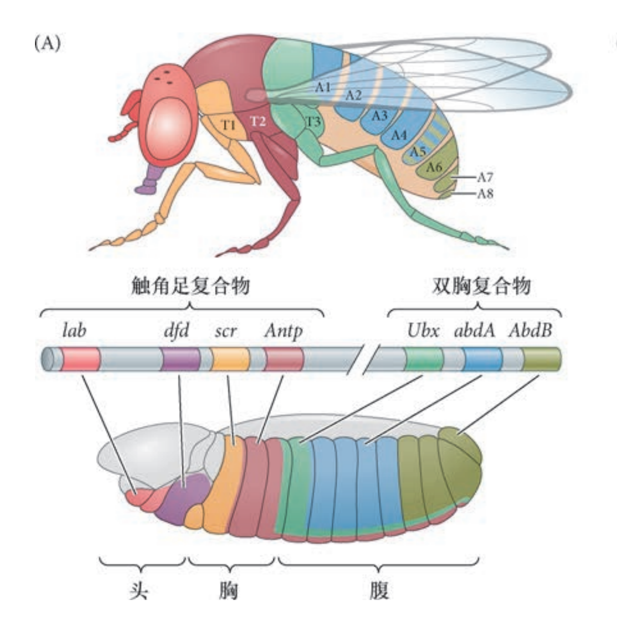


图 9.23　Wingless/Hedgehog 信号中心对细胞的特化作用。(A) 野生型果蝇胚胎的暗场照片，显示第三腹节的位置。左侧是胚胎前部，背部表面朝上。(B) A3 体节背部区域的放大，显示 1°、2°、3° 和 4° 排细胞分别形成的各种表皮结构。(C) Wingless 和 Hedgehog 的作用模型。每个信号大致产生一半的图式，或者每个信号以逐次的方式（这里显示的梯度随各自信号源的距离增加而递减）特化距离信号源特定位置的细胞命运，或者每个信号在局部范围内作用于相邻细胞，启动一个诱导的级联反应（以次序性箭显示）。（参考 Heemskerk and DiNardo 1994；照片由作者提供）。

9.5　同源异形选择者基因

体节的边界建立以后，成对规则基因和裂隙基因之间相互作用，调节一些赋予每个体节特征性结构的同源异形选择者基因（Lewis 1978）。在细胞胚盘期结束时，每个体节原基已经被一组特定的裂隙基因、成对规则基因和同源异形基因的产物赋予了一个独立的特征（Levine and Harding 1989）。果蝇染色体 III 的两个区域含有大多数这些同源异形基因（**图 9.24**）。第一个区域，称为**触角足复合物**（**Antennapedia complex**），含有唇（*lab*）、触角足（*Antp*）、性梳减少（*scr*）、畸形（*dfd*）及口器足（*pb*）基因。唇和畸形基因特化头节，而性梳减少和触足基因参与特化胸节的特征。口器足基因似乎仅在成体中发挥功能，缺失这个基因时口的唇瓣转变成腿（Wakimoto et al. 1984；Kaufman et al. 1990；Maeda and Karch 2009）。

第二个区域的同源异形基因（Lewis 1978；Maeda and Karch 2009）是**双胸复合物**（**bithorax complex**）。这一区域有三个编码蛋白质的基因：超级双胸（*Ultrabithorax*，*Ubx*）基因为第三胸节的特化所需；*abdominal A*（*abdA*）和 *Abdominal B*（*AbdB*）基因调控腹节的分节特征（Sánchez-Herrero et al. 1985）。含有触



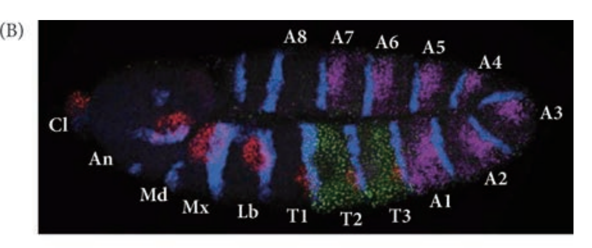


图 9.24 同源异形基因在果蝇中的表达。(A) 同源异形基因的表达图谱。中间是触角足复合物和双胸复合物的基因及它们发挥功能的区域。基因图谱的下部显示果蝇胚胎胚盘中同源异形基因的表达区域(包括 mRNA 和蛋白质),上部显示这些表达区域在成体果蝇中所形成的结构。(B) 原位杂交显示四个基因在稍后时期(延伸的胚带)的表达。*engrailed*(蓝色)的表达图式将躯体分隔成节;触角足(绿色)和超级双胸(紫色)将躯体分成胸部和腹部区域;*Distal-less*(红色)显示颚和肢发育起始的位置(A 图参考 Kaufman et al. 1990 和 Dessain et al. 1992;B 图由 D. Kosman 提供)。

角足复合物和双胸复合物的染色体区域常被称为**同源异形复合体**(**homeotic complex**,或 **HOM-C**)。

由于同源异形选择者基因调控果蝇不同部分的特化,因此,它们的突变导致一些古怪的表型。在 1894 年,William Bateson 将这些突变生物体称为**同源异形突变体**(**homeotic mutant**),数十年来,这些突变体一直令发育生物学家们着迷[7]。例如,正常成体果蝇的躯体有三个胸节,每一节上都产生一对腿。第一胸节不产生任何其他附肢;第二胸节除了有腿之外还产生一对翅;第三胸节产生一对腿和一对称为**平衡棒**(**haltere**)的平衡器官。在同源异形突变体中,每个体节的特定特征都会发生改变。缺失超级双胸基因时,第三胸节(以平衡棒为特征)转变成另一个第二胸节。结果是果蝇具有四个翅(图 9.25),使经典双翅昆虫[8]处在一种尴尬的情形。

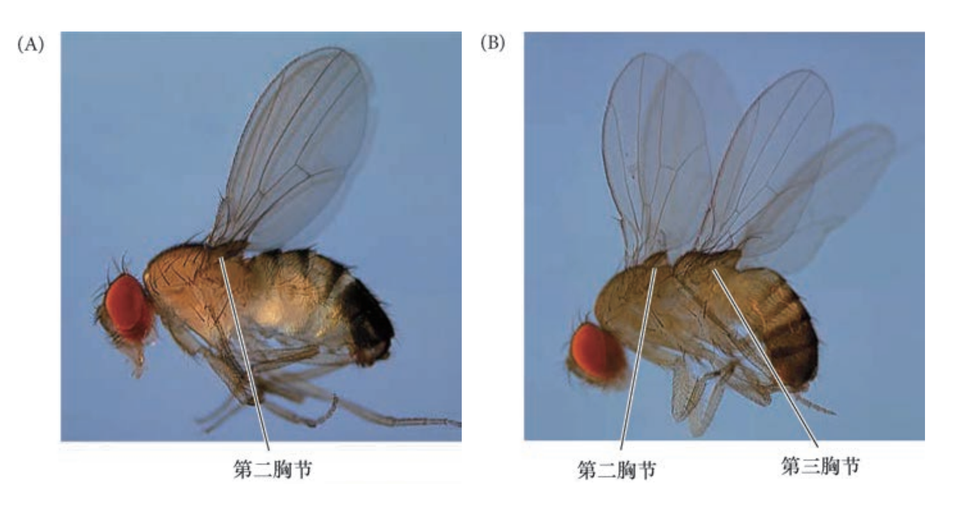


图 9.25 (A) 野生型果蝇的翅位于第二胸节。(B) 超级双胸基因的顺式元件中同时出现三个突变产生具有四个翅的果蝇。这些突变有效地将第三胸节转变为另一个第二胸节(也就是将平衡棒转变为翅)(图由 Nipam Patel 提供)。

类似地,触角足蛋白通常特化果蝇的第二胸节。如果果蝇发生突变,导致触角足基因在头部(及胸部)表达,那么从头窝中生长出来的结构将是腿而不是触角(图 9.26)。除了促进胸部结构的形成以外,

[7] 在希腊语中,*Homeo* 的意思是“相似的”。同源异形突变体是一种结构被另一种结构所取代的突变体(触角被腿所取代)。同源异形基因是基因突变后能产生这种转变的基因。因此,同源异形基因是赋予一个特定体节特征的基因。许多同源异形基因共享一个大约有 180 个碱基对的保守同源框序列。这一序列编码 60 个氨基酸的同源异形域,识别特定的 DNA 序列。同源异形域是同源异形基因编码的转录因子所具有的重要功能域。然而,并不是每个含有同源框的基因都是同源异形基因。

[8] 双翅类昆虫是具有两个翅的昆虫,如蝇类。它们被认为是从四翅昆虫进化而来的,这种变化有可能源自双胸复合物的改变。第 26 章有更多关于同源异形复合体与进化之间的关系的思考。

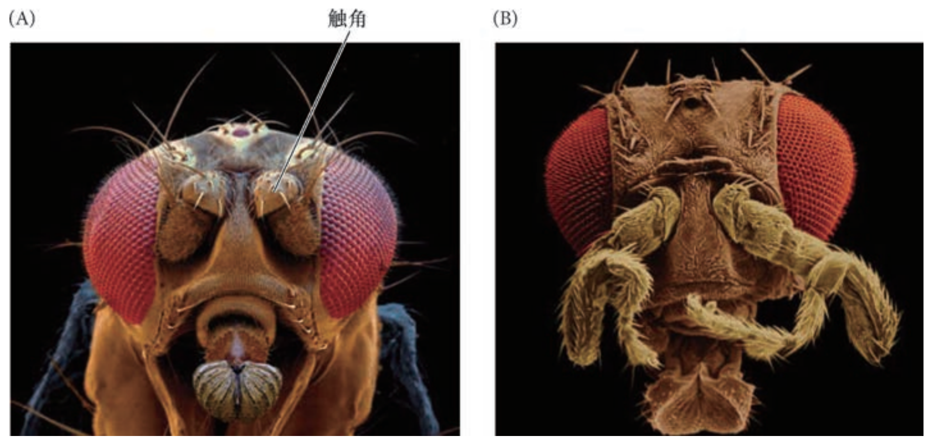


图 9.26 （A）野生型果蝇的头部。（B）触角足基因发生突变的果蝇头部，触角转变成腿（A 图为 Eye of Science/Science Source 版权所有；B 图为 Science VU/Dr. F.Rudolph Turner/Visuals Unlimited，Inc. 版权所有）。

拓展性问题

同源异形基因在果蝇和人类都特化前 - 后轴。为什么我们没有看到同源异形基因的突变在人类产生一些额外的肢，而在果蝇中却能发生这种情况？

导致这一表型的部分原因是触角足蛋白结合并抑制 *homothorax* 和 *eyeless* 基因的增强子。这两个基因编码的转录因子对于触角和眼的形成有关键的作用（Casares and Mann 1998；Plaza et al. 2001）。因此，触角足蛋白的一个功能是抑制启动触角和眼发育的基因。在触角足的隐性突变体中，这个基因无法在第二胸节表达，这样就在腿的位置长出了触角（Struhl 1981；Frischer et al. 1986；Schneuwly et al. 1987）。

一些主要的同源异形选择者基因已经被克隆出来，而且利用原位杂交的方法对它们的表达进行了分析（Harding et al. 1985；Akam 1987）。在胚胎的一些特定区域都能检测到这些基因的转录产物（见图 9.24B），在中枢神经系统中尤为显著。

科学家讲座 9.3 对 Walter Gehring 博士的访谈，他是将遗传、发育和进化整合在一起而进行研究的开拓者。这些研究发现了同源异形框及其在整个动物界的普遍性。

网络话题 9.5 **同源异形基因表达的开启与维持** 同源异形基因使果蝇胚胎形成特定的边界。此外，同源异形基因的蛋白质产物激活一系列其他基因，以特化体节。

9.6 背 - 腹轴的产生

9.6.1 卵母细胞中背 - 腹图式的形成

在卵母细胞体积增大的同时，卵母细胞核被生长中的微管推向前端背部的位置（Zhao et al. 2012）。在此处，对建立背 - 腹轴起关键作用的 *gurken* 信使启动背 - 腹轴的形成。*Gurken* 的 mRNA 逐渐定位在卵母细胞核与细胞膜之间的一个新月形区域，其蛋白质产物沿卵母细胞背部表面形成一个前 - 后梯度（**图 9.27**；Neuman-Silberberg and Schüpbach 1993）。由于它仅能扩散很短的距离，Gurken 蛋白只能接触到与卵母细胞核最接近的卵泡细胞，指令这些细胞变成较为柱状的背部卵泡细胞（Montell et al. 1991；Schüpbach et al. 1991）。通过这种方式，Gurken 蛋白在卵泡细胞层建立了背 - 腹极性。

母体缺失 *gurken* 或者 *torpedo* 基因都会导致胚胎的腹部化。然而，*gurken* 仅在卵母细胞中具有活性，而 *torpedo* 只在作为体细胞的卵泡细胞中具有活性（Schüpbach 1987）。特化背部卵泡细胞的 Gurken-Torpedo 信号启动一系列基因的活性，建立胚胎的背 - 腹轴。活化的 Torpedo 受体蛋白激活 Mirror，这是一个抑制 *pipe* 基因表达的转录因子（Andreu et al. 2012；Fuchs et al. 2012）。最终，Pipe 蛋白仅在腹部卵泡细胞中表达（**图 9.28A**；Sen et al. 1998；Amiri and Stein 2002）。Pipe 蛋白使腹部卵黄被上的一些蛋白

(A)



(B)

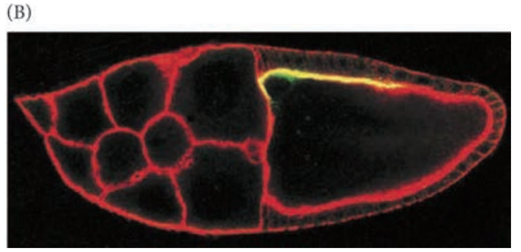


图 9.27 Gurken 在卵母细胞核与前端背部细胞膜之间的表达。(A) *gurken* 的 mRNA 位于卵母细胞核与卵巢背部的卵泡细胞之间。左侧表示前部，背部朝上。(B) 在一个更加成熟的卵母细胞中，Gurken 蛋白（黄色）在背部区域表达。肌动蛋白被染成红色，显示细胞的边界。随着卵母细胞的生长，卵泡细胞迁移经过卵母细胞上部时与 Gurken 蛋白接触（A 图来自 Ray and Schüpbach 1996，由 T. Schüpbach 提供；B 图由 C. van Buskirk 和 T. Schüpbach 提供）。

质发生硫酸盐化而改变腹部的卵黄被。这样就使原肠胚形成缺陷蛋白 (Gastrulation-defective) 结合卵黄被（仅在腹部区域），并且招募其他蛋白质而形成一个复合物，切割 Easter 蛋白，使其形成有活性的蛋白酶（**图 9.28B**；Cho et al. 2010，2012）。而后，Easter 切割 Spätzle 蛋白 (Chasan et al. 1992；Hong and Hashimoto 1995；LeMosy et al. 2001)，被切割的 Spätzle 蛋白是一个能结合并激活 Toll 受体蛋白的配体。很重要的是，Spätzle 的切割必须局限在胚胎最腹部的位置。这是由卵巢卵泡细胞所分泌的一个蛋白酶抑制因子来实现的。这样就可以阻止边缘区积累少量的蛋白酶 (Hashimoto et al. 2003；Ligoxygakis et al. 2003)。

Toll 蛋白是一个母体产物，均匀地分布在卵的细胞膜上 (Hashimoto et al. 1988，1991)。但它只有与 Spätzle 结合时才能够被激活，而 Spätzle 只产生在卵的腹侧。因此，腹部的 Toll 受体与成熟的 Spätzle 蛋白结合，含有活化的 Toll 蛋白的细胞膜进行内吞作用。有研究认为，来自 Toll 受体的信号发生在这些细胞质的内吞体中而不是在细胞膜上 (Lund et al. 2010)。因此，卵腹侧的 Toll 受体向卵传递信号，而背侧的 Toll 受体不传递信号。这种区域化的激活建立了卵母细胞的背 - 腹极性。

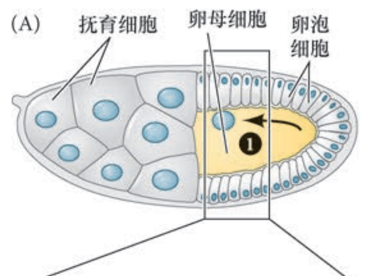
科学家讲座 9.4 Trudi Schüpbach 博士录制的两个视频显示 Gurken 蛋白在果蝇胚胎中的锚定和调节是如何实现的。

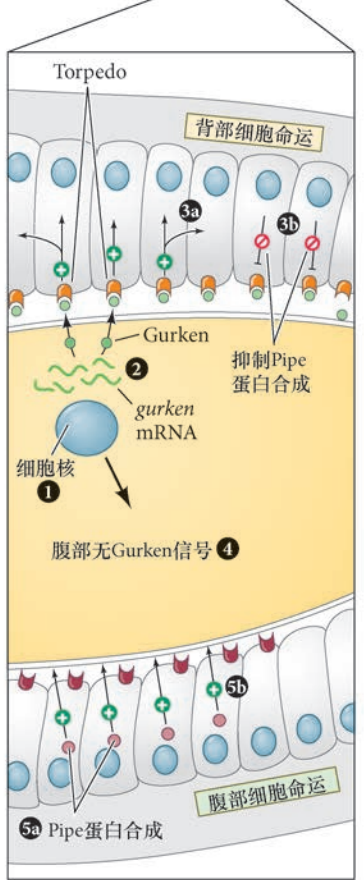
9.6.2 胚胎内部背 - 腹轴的产生

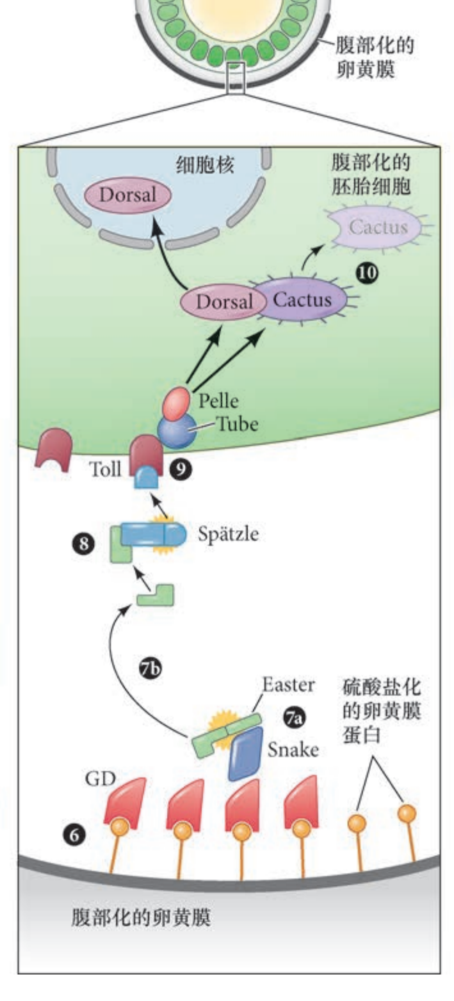
在果蝇胚胎中使背部区别于腹部的蛋白质是 *dorsal* 基因的产物。Dorsal 蛋白是激活腹部基因的转录因子（这是另一个以其突变体表型而命名的基因：*dorsal* 基因的产物是一个形态发生素，能使它所表达的区域发生腹部化）。*dorsal* 基因的母体 mRNA 转录产物被抚育细胞输送到卵母细胞。然而，Dorsal 蛋白直到受精后大约 90 min 才开始从母体 mRNA 被翻译出来，并且分布在整个胚胎，而不是定位在背侧或腹侧。那么，如果这个蛋白质表达在胚胎的所有位置，它如何作为形态发生素发挥功能？

这个问题的答案很令人出乎预料 (Roth et al. 1989；Rushlow et al. 1989；Steward 1989)。尽管 Dorsal 在果蝇早期胚胎的合胞体胚盘中广泛分布，但它只在胚胎的腹部被转运到细胞核，作为一个转录因子与一些基因结合后激活或者抑制它们的转录。如果 Dorsal 不能进入细胞核，那么参与特化腹部细胞类型的基因就不能转录，而参与特化背部细胞类型的基因就不能受到抑制，因此胚胎的所有细胞都将被特化成背部类型的细胞。

对一些母体效应突变的分析支持果蝇中这个背 - 腹轴形成的模型。这些突变产生了完全背部化或者完全腹部化的表型。如果幼体胚胎中不存在“背部”，它们就会很快地死亡 (Anderson and Nüsslein-Volhard 1984)。在所有的细胞都呈现背部化的突变体中（以它们的背部特异性外骨骼为标志），Dorsal 没有进入任何细胞的细胞核。相反，在所有细胞都呈现腹部化表型的突变体中，每个细胞的细胞核中都有 Dorsal 蛋白（**图 9.29A**）。







1. 卵母细胞核运动至卵母细胞的前端背部，同时将*gurken*的mRNA定位。
2. 翻译后的Gurken被Torpedo接收。

3a. Torpedo信号使卵泡细胞分化成背部形态。

3b. 背部卵泡细胞中Pipe的合成被抑制。

4. Gurken不向腹部的卵泡细胞扩散。

5a. 腹部卵泡细胞合成Pipe蛋白。

5b. Pipe信号将腹部卵黄膜蛋白磷酸盐化。

6. 磷酸盐化的卵黄膜蛋白与原肠胚形成缺陷蛋白(GD)结合。

7a. GD将Snake切割成活化的形式，并与Snake及未切割的Easter蛋白形成复合物。

7b. Easter被切割成活化的形式。

8. 切割后的Easter与Spätzle结合并将其切割，活化后的Spätzle与Toll受体蛋白结合。

9. 活化的Toll激活Tube和Pelle，它们再磷酸化Cactus蛋白。Cactus被降解，从Dorsal蛋白上释放下来。

10. Dorsal蛋白进入细胞核，使细胞腹部化。

图 9.28　果蝇背 - 腹极性的形成。(A) 卵母细胞核运动至将要成为胚胎背部的位置。卵母细胞中 *gurken* 基因合成的 mRNA 逐渐定位在卵母细胞核与细胞膜之间，并在这个位置翻译成 Gurken 蛋白。卵泡细胞产生的 Torpedo 受体蛋白接收 Gurken 信号（见图 9.8）。由于这一信号的短距离扩散作用，只有最靠近卵母细胞核的卵泡细胞（也就是背部的卵泡细胞）才能接收到 Gurken 信号，导致卵泡细胞呈现典型的背部卵泡形态，并抑制 Pipe 蛋白的合成。因此，Pipe 蛋白仅能由腹部卵泡细胞产生。(B) 稍后发育阶段的腹部区域。在卵黄被的腹部区域，一些被硫酸盐化的蛋白质招募原肠胚形成缺陷蛋白 (GD)。GD 再与其他蛋白质形成复合物，启动一个信号途径，导致切割后的 Spätzle 蛋白与 Toll 受体结合。以这种方式激活的信号级联反应使细胞腹部化（参考 van Eeden and St. Johnston 1999；Cho et al. 2010）。

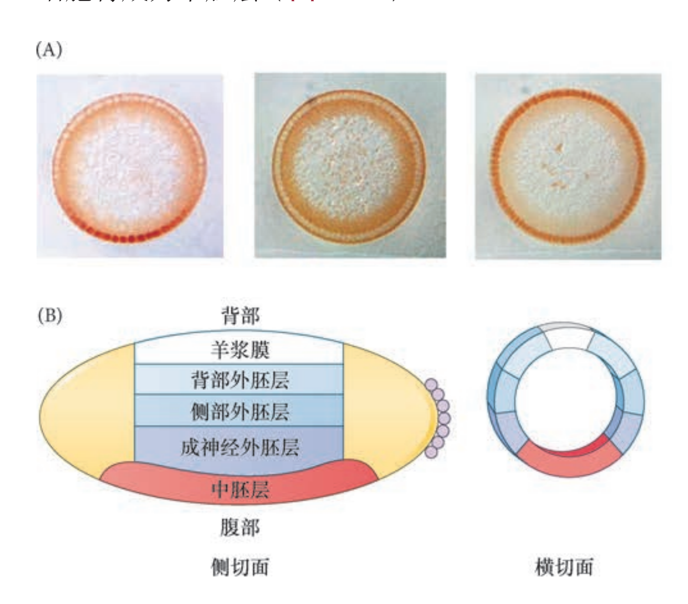
拓展性问题

根据我们在这里讨论的模型，来自卵的 Gurken 蛋白向卵泡细胞传递背 - 腹图式化的信息。我们是怎么知道的？提示：阅读 Trudi Schüpbach 博士在 1987 年发表于 *Cell* 杂志上的文章（见本章最后的拓展阅读）和观看她录制的视频（见科学家讲座 9.4）。

9.6.3　细胞核 Dorsal 梯度的建立

那么，Dorsal 蛋白如何只进入腹部细胞的细胞核？当 Dorsal 蛋白开始翻译时，它与一个称为 Cactus 的蛋白质在合胞体胚盘的细胞质中形成复合物。只要与 Cactus 结合，Dorsal 就被滞留在细胞质中。Dorsal 蛋白在应答一个将它从 Cactus 脱离下来的信号途径时进入腹部细胞核（见图 9.28B）。Dorsal 与 Cactus 的

分离起始于 Toll 受体在腹部的激活。当 Spätzle 结合并激活 Toll 受体时，Toll 激活一个称为 Pelle 的蛋白激酶。另一个蛋白质——Tube，可能将 Pelle 带到细胞膜，并且在这个位置 Pelle 被活化（Galindo et al. 1995）。活化的 Pelle 蛋白激酶（可能通过一个中间物）能使 Cactus 磷酸化。一旦被磷酸化，Cactus 随即就被降解，Dorsal 蛋白就可以进入细胞核（Kidd 1992；Shelton and Wasserman 1993；Whalen and Steward 1993；Reach et al. 1996）。因为 Toll 被 Spätzle 蛋白梯度激活，而这梯度的最高浓度位于最腹部的区域，所以，胚胎腹部细胞中也存在一个 Dorsal 蛋白的转运梯度，这个梯度的最大浓度位于最腹部细胞的细胞核中，而这些细胞将成为中胚层（图 9.29B）。



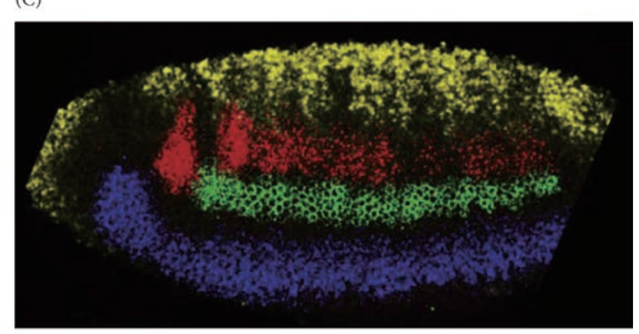
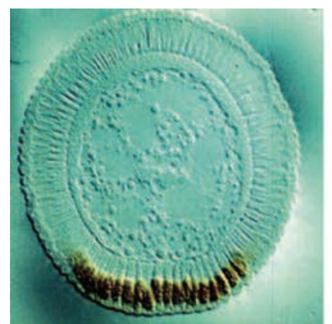
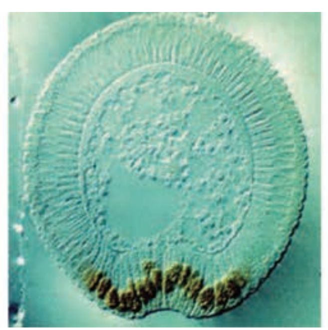


图 9.29 Dorsal 蛋白对细胞命运特化的作用。(A) 抗体染色的胚胎横切面显示 Dorsal 蛋白的表达（较暗的区域）。在野生型胚胎（左），Dorsal 蛋白只定位在最腹部的细胞核中。在背部化的突变体（中），任何细胞核中都没有 Dorsal 蛋白。在腹部化的突变体（右），Dorsal 蛋白进入每一个细胞核。(B) 在第 14 个分裂周期通过果蝇胚胎的横切面的命运图谱。最腹部的区域变成中胚层；紧邻的上部变为成神经（腹部）外胚层。侧部和背部外胚层可由外皮予以区分。最背部的区域变成羊浆膜，是包围胚胎的胚外层。Dorsal 蛋白向腹部而不是向侧部或背部细胞的细胞核中转运，形成一个梯度。含有最多 Dorsal 蛋白的腹部细胞变成中胚层前体。(C) 果蝇的背 - 腹图式形成。在整封染色的胚胎躯干区域可以看到 Dorsal 蛋白梯度所产生的结果。最腹部的基因 *ventral nervous system defective*（腹部神经系统缺陷基因）表达在成神经外胚层（蓝色）。另一个基因，即 *intermediate neuroblast defective*（居间成神经细胞缺陷）基因，表达在侧部外胚层（绿色）。红色表示 *muscle-specific homeobox*（肌特异性同源异形框）基因在中胚层的表达，位于居间成神经细胞的上部。最背部的组织表达 *decapentaplegic*（黄色）(A 图来自 Roth et al. 1989，由作者提供；B 图参考 Rushlow et al. 1989；C 图来自 Kosman et al. 2004，由 D. Kosman 和 E. Bier 提供）。

Dorsal 蛋白为果蝇原肠胚形成的第一个形态发生事件传递信号。最腹部的 16 个细胞，也就是细胞核中具有最多 Dorsal 蛋白的那些细胞，内陷形成中胚层（图 9.30）。所有的肌细胞、脂肪体和生殖腺都来自这些中胚层细胞（Foe 1989）。位于腹部中线的细胞将成为神经和胶质细胞。

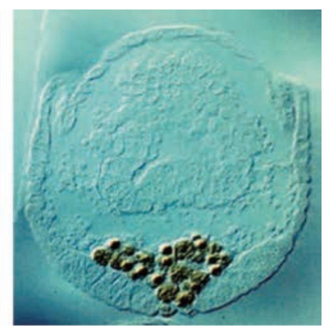
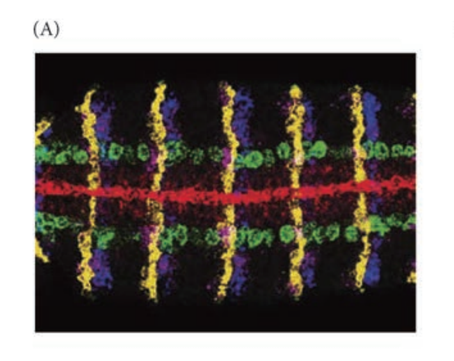


图 9.30 果蝇的原肠胚形成。在这一横切面中，胚胎腹部的中胚层细胞向内陷入，形成腹沟（见图 9.5A，B）。这个沟变成一个管，内陷进入胚胎内部，然后变得扁平并产生中胚层器官。细胞核用一个中胚层标记蛋白 Twist 的抗体染色（来自 Leptin 1991a，由 M. Leptin 提供）。

网络话题 9.6　**Dorsal 蛋白梯度的作用**　Dorsal 作为转录因子启动一个信号级联反应，为中胚层、内胚层和外胚层的特化创造条件。

9.7　体轴和器官原基：直角坐标模型

果蝇胚胎的前 - 后及背 - 腹轴形成一个坐标系，可以用来指定胚胎内的不同位置（图 9.31A）。从理论上讲，最初具有相同发育潜能的细胞在表达不同的基因后对它们各自位置做出应答。唾液腺原基的形成可以说明这种类型的特化（Panzer et al. 1992；Bradley et al. 2001；Zhou et al. 2001）。



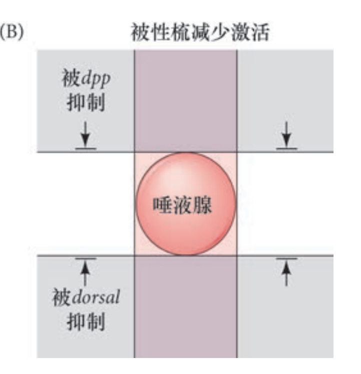


图 9.31　根据基因表达图式绘制的坐标系。(A) *short-gastrulation*（红色）、*intermediate neuroblast defective*（绿色）和 *muscle segment homeobox*（品红色）沿背 - 腹轴的表达，以及 *wingless*（黄色）和 *engrailed*（紫色）沿前 - 后体轴的表达所组成的网格结构。(B) 形成果蝇唾液腺的基因表达坐标。这些基因被性梳减少（*scr*）同源异形基因的产物在一条沿前 - 后轴方向的狭长区域内激活，同时被 *decapentaplegic*（*dpp*）和 *dorsal* 基因产物在一个沿背 - 腹轴限定的区域内抑制。这种图式使得唾液腺在第二副体节的胚胎中线处形成（A 图由 D. Kosman 提供；B 图参考 Panzer et al. 1992）。

性梳减少（*scr*）基因的活性沿前 - 后轴方向限定了一组细胞（副体节 2），果蝇唾液腺只能由这些细胞形成。缺失 *scr* 的突变体不能形成唾液腺。此外，如果通过实验操作将 *scr* 表达在整个胚胎中，那么在几乎整个胚胎的全长都会形成一个腹侧条带的唾液腺原基。唾液腺沿背 - 腹轴的形成可被 Decapentaplegic 和 Dorsal 蛋白抑制，两者都能在背部和腹部抑制唾液腺的形成。因此，唾液腺在垂直的 *scr* 表达条带（副体节 2）和胚胎圆周中间的水平区域所产生的交叉点处形成，这一位置既没有 Decapentaplegic 蛋白，也没有 Dorsal 蛋白（图 9.31B）。沿前 - 后轴和背 - 腹轴交叉处的基因活性指令这些细胞形成唾液腺。

一个类似的情形是果蝇每个体节中的神经前体细胞。成神经细胞来自 10 个由 4 ～ 6 个细胞组成的细胞簇，这些细胞簇形成于胚胎中线两侧的神经外胚层（Skeath and Carroll 1992）。细胞之间的相互作用（通过 Notch 信号通路；在第 4 章已有讨论）使每一簇细胞中只产生一个神经细胞。Skeath 及其同事（1993）证明，神经基因的转录图式受一个坐标系统的影响。它们的表达沿背 - 腹轴被 Decapentaplegic 和 Snail 所抑制，而在前 - 后轴方向上被成对规则基因所正向增强，这使神经基因在每个半体节中重复。所以，果蝇器官原基的位置很可能受一个基于前 - 后轴和背 - 腹轴的二维坐标中的交叉点所限定。

网络话题 9.7　**左 - 右轴**　果蝇具有一个从胚胎中心向两侧延伸的左 - 右轴。每一组肢在左侧和右侧发育，但胚胎并不是完全对称。

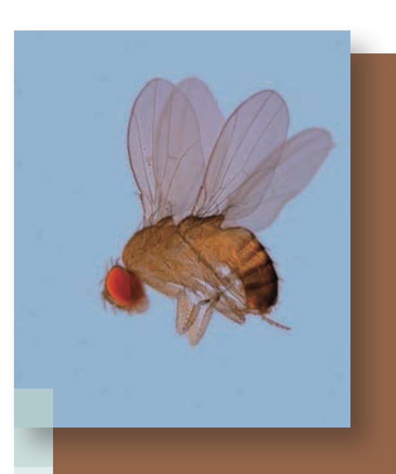
结束语

对果蝇胚胎的遗传学研究揭示了许多参与前 - 后轴和背 - 腹轴特化的基因。果蝇基因的突变使得我们能够对一个复杂生物体中图式形成的多层次调控有一个初步的了解，也使得我们能够分离这些基因及其产物。然而最重要的是，如我们将会在后面几章中看到的那样，从果蝇基因研究中获取的认知对帮助我们理解昆虫和整个动物界中体轴图式形成的普遍机制至关重要。

网络话题 9.8 **其他昆虫的早期发育** 黑腹果蝇及其近亲是高度衍生的物种。其他昆虫物种的发育与“标准”果蝇有很大的差异。

下一步的研究

果蝇转录图式的精确性很是令人惊叹，一个转录因子可以特化整个区域或者很小的一部分。在果蝇中，一些最重要的调节基因，如裂隙基因，具有一些“影子增强子”（shadow enhancer），也就是一些可能距离基因相当远的次级增强子。这些影子增强子似乎对基因表达的精细调控也是必需的，并且它们有可能与主要的增强子合作或者竞争。这样的一些影子增强子可能在特定的生理压力下才发挥作用。一些新的研究显示，果蝇稳定而显著的表型可能是因为它有一整套能够在不同条件下临时发挥作用的次级增强子（Bothma et al. 2015）。



开篇图的思考

在果蝇中，遗传的基因产生一些蛋白质，这些蛋白质相互作用以特化躯体的正常定向，使头部在躯体的一端，而尾部在另一端。因为你们学习本章的内容，你们应该能观察到这些相互作用如何将果蝇躯体的所有部分特化成一些模块单元。同源异形蛋白的图式化阵列特化成体果蝇中每个体节将要形成的结构。编码这些蛋白质的基因的突变，称为同源异形突变，能引起被特化的结构发生改变，导致在应该形成平衡棒的位置形成翅，或者在应该形成触角的位置形成腿（见第 280-281 页）。最显著的是，突变体附肢的近－远端方向与初始附肢的近－远轴相对应，这表明附肢的延伸也遵循一些相似的规则。现在我们知道影响成体果蝇分节的许多突变实际上都作用于胚胎模块单元，即副体节（见第 272-273 页）。我们应该清楚的是，无论是在无脊椎动物还是在脊椎动物，胚胎构建的一些单元通常不同于成体中的那些单元（Photograph courtesy of Nipam Patel）。

9 要点总结

果蝇发育和体轴特化

1. 果蝇的卵裂是表面卵裂。在形成细胞之前细胞核分裂 13 次，并且处在合胞体胚盘中。每个细胞核都被充满肌动蛋白的细胞质所包围。
2. 细胞形成后，果蝇胚胎进行中囊胚期转换，卵裂变得不同步，新的 mRNA 被合成。这时，胚胎的发育从母体调控转换为合子调控。
3. 原肠胚形成起始于胚胎最腹部区域（预定中胚层）的内陷，导致腹沟的形成。胚带的延伸使未来后部的体节卷曲到紧位于头部后的位置。
4. 调节果蝇图式形成的基因根据某些规则发挥作用：

- 有一些形态发生素，如 Bicoid 蛋白和 Dorsal 蛋白，它们的梯度决定不同细胞类型的特化。在合胞体胚胎中，这些形态发生素可以是转录因子。
- 基因表达边界能通过转录因子和它们的靶基因之间的相互作用而建立。在这种情况下，转录较早的转录因子调节下一系列基因的表达。
- 早期胚胎中的翻译调控极为重要，而且区域化的 mRNA 对胚胎的图式形成也有关键作用。
- 单个细胞的命运并不是被直接限定。相反，有一个逐步特化的过程。在这个过程中，一个特定的区域被划分和再划分，最终调节单个细胞的命运。

5. 不同类别的基因以一定的时间顺序转录，一个基因的产物通常调节另一个基因的表达。

6. 母体效应基因参与启动前 - 后极性的形成。*bicoid* 的 mRNA 通过它的 3′ 非翻译区在未来的前极被绑定到细胞骨架；*nanos* 的 mRNA 也通过它的 3′ 非翻译区被隔离在未来的后极。而 *hunchback* 和 *caudal* 的 mRNA 在整个胚胎中均有分布。

7. 背 - 腹极性受 Dorsal 蛋白的入核所调节。背 - 腹极性的建立起始于细胞核运动至卵母细胞的前端背部，并且将 *gurken* 信使隔离在这个位置，使 Gurken 蛋白在卵的背部合成。

8. Dordal 蛋白进入不同的细胞核时形成一个梯度。靠近最腹侧表面的细胞核接收最多的 Dorsal 蛋白，将变成中胚层；更靠近侧部的细胞则变为成神经外胚层。

9. Bicoid 蛋白和 Hunchback 蛋白激活一些参与果蝇前部发育的基因；Caudal 蛋白激活一些参与后部发育的基因。

10. 未分节的前后两端受 Torso 蛋白在卵的前后两极的激活所调节。

11. 裂隙基因对一些母体效应基因的蛋白浓度产生应答。这些蛋白产物相互作用，使得每个裂隙基因的蛋白质能够限定胚胎的特定区域。

12. 裂隙基因的蛋白激活或者抑制成对规则基因。成对规则基因具有模块化的增强子，使得它们在 7 个“条纹”中被激活。这些基因的转录边界受裂隙基因限定。成对规则基因沿前 - 后轴形成 7 个转录条带，每个条带都由 2 个副体节组成。

13. 成对规则基因的产物在相邻细胞中激活 *engrailed* 和 *wingless* 的表达。表达 *engrailed* 的细胞形成每个副体节的前部边界。这些细胞形成一个信号中心，组织胚胎的外皮形成和分节结构。

14. 同源异形选择者基因位于果蝇染色体 III 的两个复合物中。这些区域被统称为 HOM-C，即同源异形基因复合体。这些基因的排列与它们的转录表达顺序相同。HOM-C 基因特化单个体节，它们的突变能使一个体节转变成另一个体节。

15. 器官在基因表达的背 - 腹区域与前 - 后区域的交叉处形成。

拓展阅读

Driever, W., V. Siegel, and C. Nüsslein-Volhard. 1990. Autonomous determination of anterior structures in the early *Drosophila* embryo by the Bicoid morphogen. *Development* 109: 811–820.

Dubuis, J. O., G. Tkacik, E. F. Wieschaus, T. Gregor and W. Bialek. 2013. Positional information, in bits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 16301-–16308.

Ingham, P. W. 2016. *Drosophila* segment polarity mutants and the rediscovery of the Hedgehog pathway genes. *Curr. Top. Dev. Biol.* 116: 477–488.

Lehmann, R. and C. Nüsslein-Volhard. 1991. The maternal gene *nanos* has a central role in posterior pattern formation of the *Drosophila* embryo. *Development* 112: 679–691.

Lewis, E. B. 1978. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 276: 565–570.

Maeda, R. K. and F. Karch. 2009. The Bithorax complex of *Drosophila*. *Curr. Top. Dev. Biol.* 88: 1–33.

Martinez-Arias, A. and P. A. Lawrence. 1985. Parasegments and compartments in the *Drosophila* embryo. *Nature* 313: 639–642.

McGinnis, W., R. L. Garber, J. Wirz, A. Kuroiwa and W. J. Gehring. 1984. A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* 37: 403–408.

Nüsslein-Volhard, C. and E. Wieschaus. 1980. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287: 795–801.

Pankratz, M. J., E. Seifert, N. Gerwin, B. Billi, U. Nauber and H. Jäckle. 1990. Gradients of *Krüppel* and *knirps* gene products direct pair-rule gene stripe patterning in the posterior region of the *Drosophila* embryo. *Cell* 61: 309–317.

Roth, S., D. Stein and C. Nüsslein-Volhard. 1989. A gradient of nuclear localization of the dorsal protein determines dorsoventral pattern in the *Drosophila* embryo. *Cell* 59: 1189–1202.

Schultz, J. 1935. Aspects of the relation between genes and development in *Drosophila*. *American Naturalist* 69: 30–54.

Schüpbach, T. 1987. Germline and soma cooperate during oogenesis to establish the dorsoventral pattern of egg shell and embryo in *Drosophila melanogaster*. *Cell* 49: 699–707.

Struhl, G. 1981. A homeotic mutation transforming leg to antenna in *Drosophila*. *Nature* 292: 635–638.

Wang, C. and R. Lehman. 1991. Nanos is the localized posterior determinate in *Drosophila*. *Cell* 66: 637–647.

Wieschaus, E. 2016. Positional information and cell fate determination in the early *Drosophila* embryo. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 567–580.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 10 章

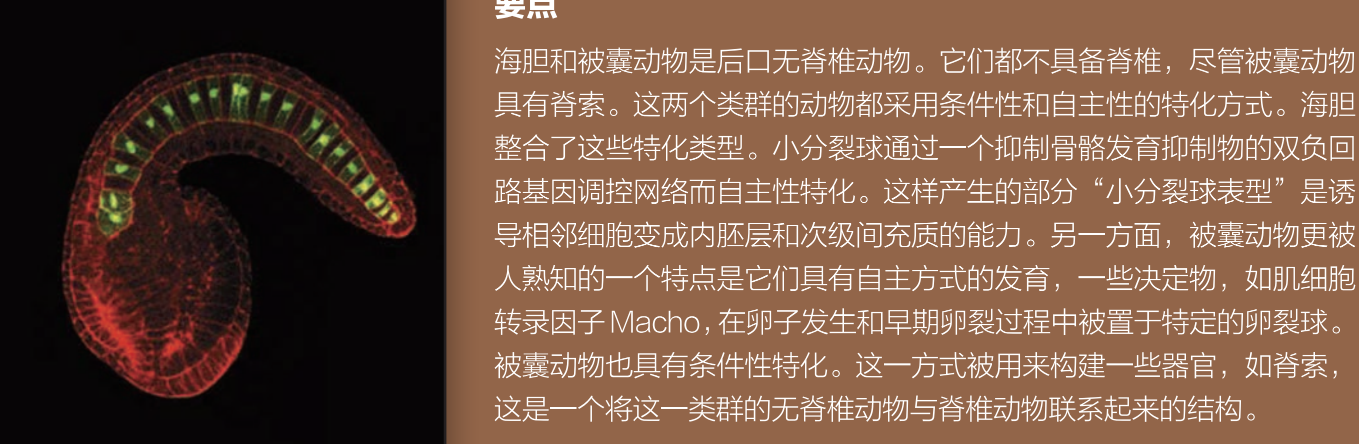
海胆和被囊动物

后口无脊椎动物

这个被囊动物胚胎中的荧光细胞如何表明它与人类的亲缘关系？

我们已经描述了，三个原口类群中代表性物种（软体动物、线虫和昆虫）的早期发育过程，接下来我们将要描述的是后口动物。尽管后口动物的物种比原口动物要少得多，但却包括了所有的脊椎动物类群，即鱼类、两栖类、爬行类、鸟类及哺乳类。有几个无脊椎动物类群也采用后口动物的发育图式（原肠胚形成过程中胚孔变成肛门），包括半索动物（柱头虫）、头索动物（文昌鱼）、棘皮动物（海胆、海星、海参等）及尾索动物（被囊动物，也称为海鞘）（图 10.1）。本章内容涵盖棘皮动物（尤其是海胆）和被囊动物的早期发育。这两类动物都是发育生物学关键领域的研究对象。

的确，条件性特化（“调节性发育”）方式首先是在海胆中被发现的，而被囊动物则最先提供了自主性特化（“嵌合性发育”）的证据。但我们将会看到，实际上这个类群既使用条件性特化，也使用自主性特化的方式。





要点

海胆和被囊动物是后口无脊椎动物。它们都不具备脊椎，尽管被囊动物具有脊索。这两个类群的动物都采用条件性和自主性的特化方式。海胆整合了这些特化类型。小分裂球通过一个抑制骨骼发育抑制物的双负回路基因调控网络而自主性特化。这样产生的部分“小分裂球表型”是诱导相邻细胞变成内胚层和次级间充质的能力。另一方面，被囊动物更被人熟知的一个特点是它们具有自主方式的发育，一些决定物，如肌细胞转录因子 Macho，在卵子发生和早期卵裂过程中被置于特定的卵裂球。被囊动物也具有条件性特化。这一方式被用来构建一些器官，如脊索，这是一个将这一类群的无脊椎动物与脊椎动物联系起来的结构。

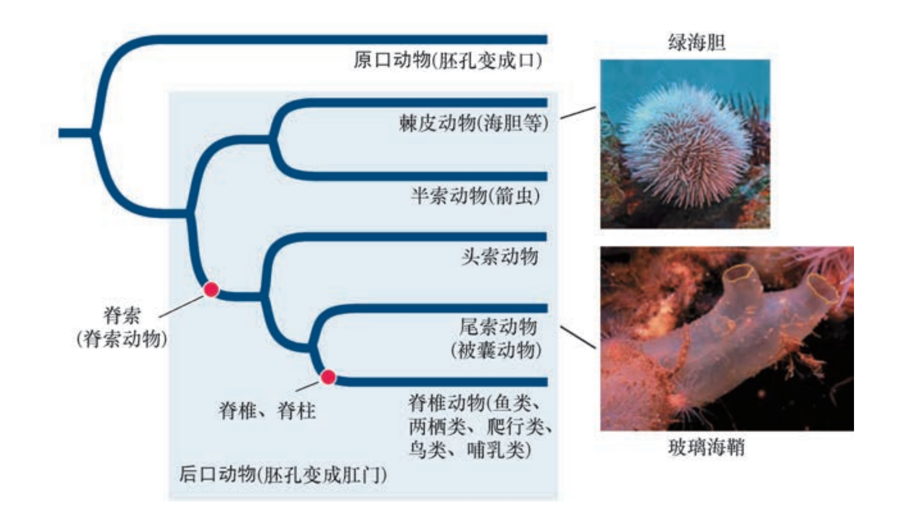


图 10.1 棘皮动物和被囊动物是后口无脊椎动物的代表物种。然而，由于被囊动物的幼体具有脊索、背部神经管和咽弓，因此它们被分类为脊索动物。被囊动物被称为尾索动物，这一名称强调了它们与其他脊索动物类群的亲缘关系。绿海胆（*Lytechinus variegatus*）和被囊动物玻璃海鞘（*Ciona intestinalis*）是两种被广泛研究的模式动物（绿海胆照片由 David McIntyre 提供；玻璃海鞘照片为 Nature Picture Library/Alamy 版权所有）。

10.1 海胆的早期发育

在探索基因如何调节躯体形成的研究中，海胆是尤其重要的生物。Hans Driesch 在研究海胆时发现了调节性发育的现象。他发现海胆的早期发育具有一种调节性方式，因为从 4 细胞期胚胎中分离出来的一个卵裂球可以形成一个完整的长腕幼体（Driesch 1891；见第 2 章）。然而，从更晚期的胚胎中分离出来的细胞就不能变成幼体的所有细胞。

海胆胚胎也提供了染色体是发育所必需的、DNA 和 RNA 存在于每个动物细胞中、信使 RNA 引导蛋白质的合成、储存的 RNA 提供了早期胚胎发育的蛋白质、细胞周期蛋白调控细胞周期及增强子模块化的最早证据（Ernst 2011；McClay 2011）。第一个被克隆的真核基因是编码海胆组蛋白的基因（Kedes et al. 1975），染色质重塑的第一个证据是关于海胆发育过程中组蛋白的变化（Newrock et al. 1978）。随着新的遗传学技术的涌现，海胆胚胎在描述不同细胞命运特化的遗传机制方面将继续发挥关键作用。

10.1.1 早期卵裂

海胆胚胎呈现**辐射完全卵裂**（**radial holoblastic cleavage**；图 10.2 和图 10.3）。回忆第 1 章的内容，这类卵裂见于具有很少卵黄的卵，而且完全卵裂的卵裂沟延伸经过整个卵（见图 1.5）。在海胆中，最早的七次卵裂呈现出固定的图式，也就是相同物种中的所有个体都具有相同的卵裂图式。第一和第二次卵裂都是经向的，并且两次卵裂彼此垂直（也就是说，卵裂沟都经过动物极和植物极）。第三次卵裂是纬向的，与前两次的卵裂面垂直，并将动物半球和植物半球彼此分开（见图 10.2A，上排；图 10.3A ～ C）。然而，第四次卵裂却很不相同。动物层的 4 个细胞经向分裂成 8 个卵裂球，每个细胞都具有相同的体积。这 8 个细胞称为**中分裂球**（**mesomere**）。然而，植物层的细胞经历不均等的纬向分裂（见图 10.2B），在植物极产生 4 个大细胞，即**大分裂球**（**macromere**），以及 4 个较小的**小分裂球**（**micromere**）。绿海胆是一种常用的实验动物，其细胞质在大分裂球和小分裂球之间的比例维持在 95 ∶ 5。胚胎在 16 细胞期分裂时，8 个“动物”中分裂球纬向分裂，产生两层细胞，即 an_1 和 an_2，一层叉排在另一层的上方。大分裂球进行经向分裂，从而在 an_2 细胞层的下面形成一个由 8 个细胞组成的细胞层（见图 10.2A，下排）。稍后，小分裂球进行不均等分裂，在植物极 4 个大体积的小分裂球的下方产生由 4 个小体积的小分裂球组成的细胞簇。小体积的小分裂球再分裂一次，而后停止分裂，直到幼体阶段。在第六次分裂时，动物半球的细胞进行经向分裂，而植物极细胞进行纬向分裂。这一图式在第七次分裂时反转（见图 10.2A，下排）。这时的胚胎是一个由 120 个细胞所组成的囊胚[1]，细胞围绕一个称为**囊胚腔**（**blastocoel**）的空腔形成一个

[1] 你大概会预期一个具有 128 细胞的囊胚，但不要忘记，小体积的小分裂球已经停止分裂。

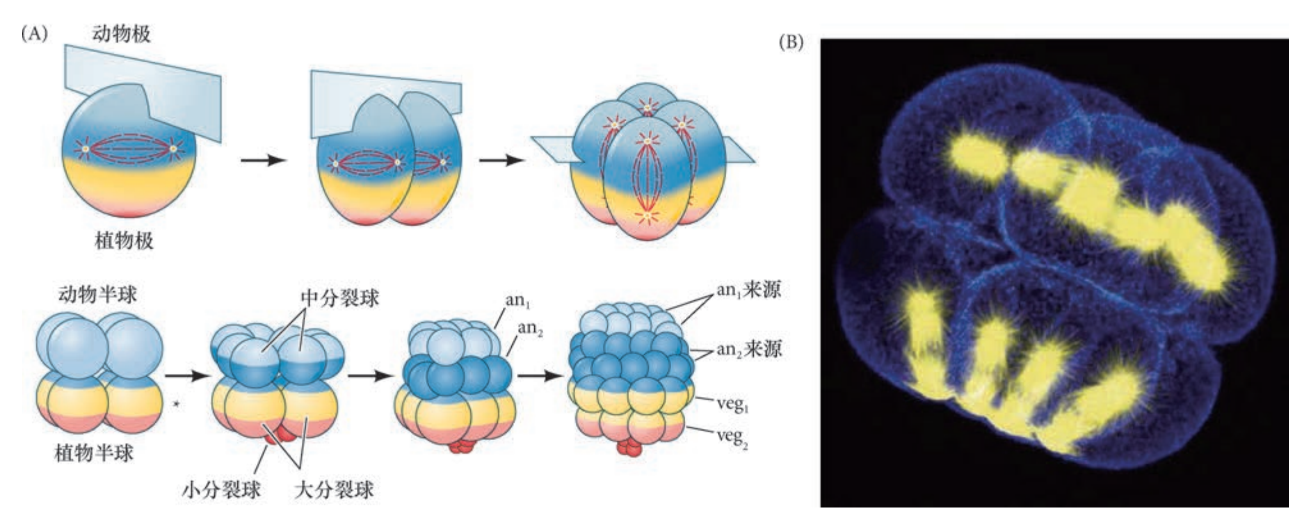


图 10.2　海胆的卵裂。(A) 前三次卵裂的分裂面，以及在第三到第六次卵裂时细胞层的形成。(B) 激光共聚焦荧光显微照片显示起始于 16 细胞期的不均等分裂（A 中的星号），重点显示产生大分裂球和小分裂球的植物极卵裂球的不均等纬向分裂（B 图由 G. van Dassow 和 Center for Cell Dynamics 提供）。

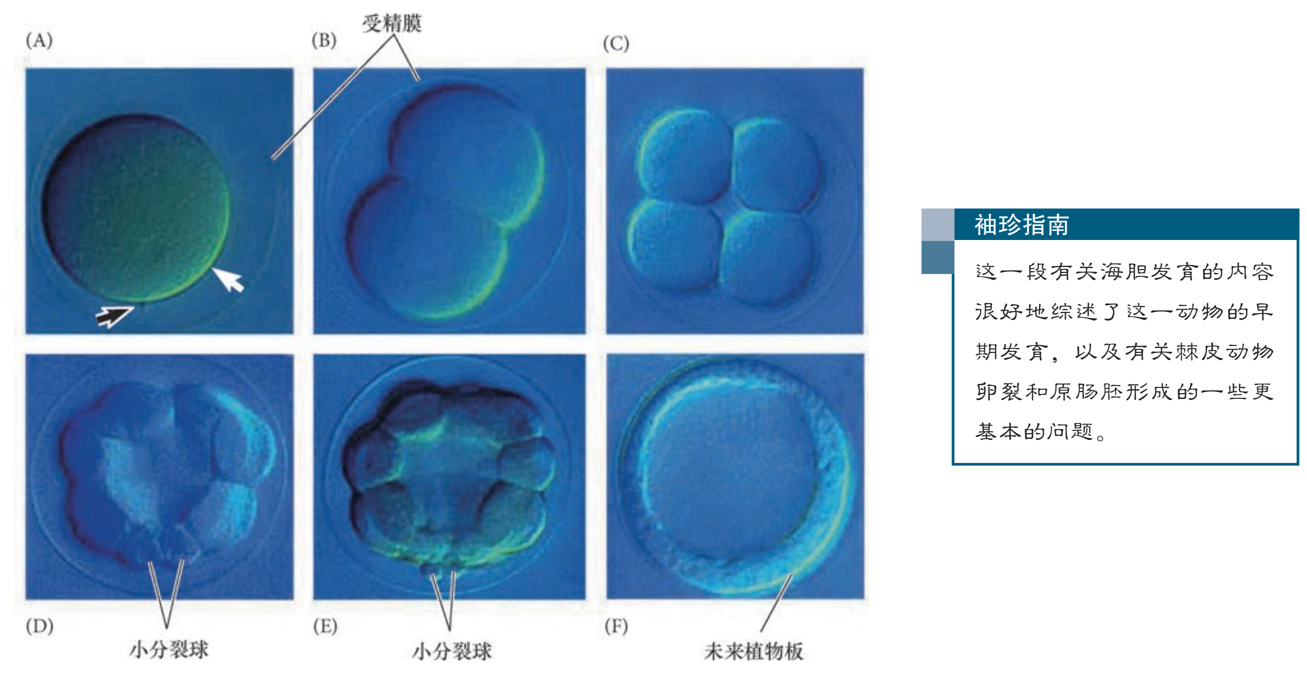


图 10.3　绿海胆（*Lytechinus variegatus*）活体胚胎卵裂的显微照片，侧面观。(A) 单细胞胚胎（合子）。黑色箭标记精子入卵点；白色箭标记植物极。包围胚胎的受精膜清晰可见。(B) 2 细胞期。(C) 8 细胞期。(D) 16 细胞期。小分裂球已经在植物极形成。(E) 32 细胞期。(F) 囊胚已经从受精膜中孵化出来。植物板开始变厚（由 J. Hardin 提供）。

袖珍指南

这一段有关海胆发育的内容很好地综述了这一动物的早期发育，以及有关棘皮动物卵裂和原肠胚形成的一些更基本的问题。

中空的球状结构（见图 10.3F）。从这时开始，细胞分裂的图式变得更加不规则。

10.1.2　囊胚形成

在囊胚期，海胆中所有细胞的大小相同，小分裂球也减缓了分裂速度。每个细胞都在内侧与囊胚腔中的蛋白液相接触，在外侧与透明层相接触。细胞之间的紧密连接把原本联系松散的卵裂球联合成一个无缝隙的上皮细胞层，将囊胚腔完全包围起来。当细胞继续分裂时，囊胚维持一层细胞的厚度，在扩展时变薄。这一过程伴随着卵裂球与透明层的黏附，以及水的流入而使囊胚腔扩充（Dan 1960；Wolpert and Gustafson 1961；Ettensohn and Ingersoll 1992）。

这些迅速而稳定的细胞分裂一直持续到第九或者第十次卵裂，取决于不同的物种。此时，细胞的命

运已经被特化（在下一部分讨论），而且每个细胞都在远离囊胚腔的细胞膜区域生长出纤毛。因此，每个胚胎细胞都具有顶 - 基（外 - 内）极性，并且有证据表明 PAR 蛋白（与线虫类似）参与区分基底细胞膜（Alford et al. 2009）。具有纤毛的囊胚开始在受精膜内翻转。不久之后就能观察到这些细胞之间的差异。囊胚植物极的细胞开始变厚，形成**植物板**（**vegetal plate**；见图 10.3F）。动物半球的细胞合成并分泌一种孵化酶，消化受精膜（Lepage et al. 1992）。这时的胚胎变成了一个可以自由游动的**孵化囊胚**（**hatched blastula**）。

网络话题 10.1 **实验室中的海胆** 斯坦福大学维持了一个很有用和可以自由浏览的网站，命名为 VirtualUrchin。这个网站描述和概括了大量在实验室中研究海胆的方法。史瓦兹摩尔学院（Swarthmore College）的发育生物学网站也提供一些有用的实验室操作步骤。

10.1.3 命运图谱和海胆卵裂球的命运决定

早期建立的一些海胆命运图谱在 16 细胞期追踪了每个卵裂球的后代细胞的命运。近来的一些研究通过向每个细胞内注射荧光染料来追踪细胞命运，从而将命运图谱进一步完善。这些染料标记不仅在被注射的细胞中发光，而且在这些细胞经历很多次分裂后，也能在所有的后代细胞中发光（见第 1 章和第 2 章的内容）。这些研究表明，到 60 细胞期，大部分胚胎细胞的命运已经被特化，但却不是不可逆转的命运确定。换句话说，胚胎中特定的卵裂球持续产生相同的细胞类型，但这些细胞依然具有多能性。如果用实验手段将这些细胞置于胚胎的不同位置，它们将会产生一些其他的细胞类型。

图 10.4 显示了 60 细胞期海胆胚胎的命运图谱。动物半球始终产生外胚层，即幼体的外皮和神经元。veg_1 细胞层产生幼体的外胚层或者内胚层器官的细胞。veg_2 层产生的细胞能分布在三种不同的结构，分别是内胚层、体腔（内部中胚层体壁），以及**非成骨间充质**（**non-skeletogenic mesenchyme**），有时也称为**次级间充质**（**secondary mesenchyme**）。这些次级间充质产生色素细胞、免疫细胞和肌细胞。小分裂球的上层细胞（大体积的小分裂球）产生**成骨间充质**（**skeletogenic mesenchyme**），也称为**初级间充质**（**primary mesenchyme**），将形成幼体的骨骼。小分裂球的下层细胞（也就是小体积的小分裂球）在胚胎发育中不发挥作用。然而，它们参与形成幼体体腔的一些细胞。在变态过程中，体腔是成体组织的来源（Logan and McClay 1997，1999；Wray 1999）。小体积的小分裂球也参与形成生殖系细胞（Yajima and Wessel 2011）。

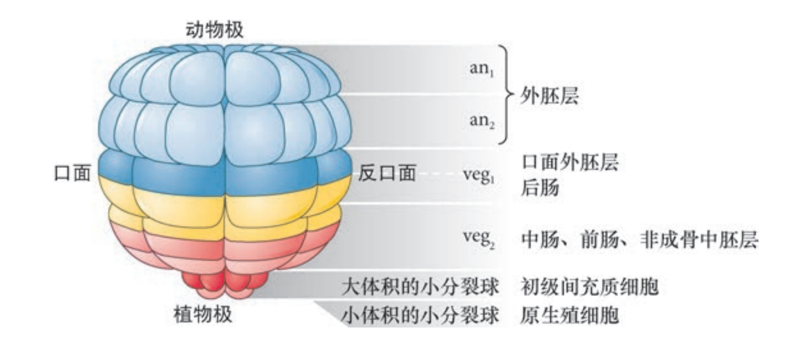


图 10.4 紫色球海胆（*Strongylocentrotus purpuratus*）的命运图谱和细胞谱系。这里显示的是 60 细胞期的胚胎，胚胎的左侧面向读者。卵裂球的命运在卵的动物 - 植物极轴方向被分隔开来。

不同细胞层的命运在一个两步化的过程中受到决定。

1. 大体积的小分裂球的命运是自主性特化的。它们继承了储存在卵植物极的母体决定物。在第四次卵裂时，这些决定物被分配到大体积的小分裂球。因此，这 4 个小分裂球被决定成为成骨间充质细胞。它们离开囊胚上皮，进入囊胚腔，沿囊胚腔壁迁移到特定的位置，而后分化成幼体的骨骼。
2. 自主性特化的大体积的小分裂球这时能产生一些旁分泌和近分泌因子，条件性地特化相邻细胞的命运。这些小分裂球产生一些信号，指令上部的细胞变成内中胚层（内胚层和次级间充质细胞）并诱导它们向胚胎内陷。

小分裂球产生信号和改变相邻细胞命运的能力尤为显著。如果将小分裂球从胚胎中分离出来，置于分离的**动物帽**（**animal cap**）之下，也就是通常发育成为外胚层的两层动物极细胞的下方，那么动物帽细胞将产生内胚层，并且会发育形成一个或多或少基本正常的幼体（图 10.5；Hörstadius 1939）。

这些成骨小分裂球是最早通过自主方式而获得命运决定的细胞。如果从 16 细胞期的胚胎中将小分裂球分离出来，它们在培养皿中能分裂适当的次数，并形成骨针（Okazaki 1975）。因此，分离的小分裂球不需要任何其他信号来决定它们的骨骼命运。此外，如果将成骨小分裂球移植到囊胚的动物极区域，不仅它们的后代细胞能形成骨针，而且移植的小分裂球也能通过诱导第二个原肠胚形成位点而改变附近细胞的命运。在正常情况下应该形成外胚层皮肤细胞的那些细胞被重新特化成内胚层并形成第二个肠（图 10.6；Hörstadius 1973；Ransick and Davidson 1993）。因此，小分裂球的诱导能力也是自主建立的。

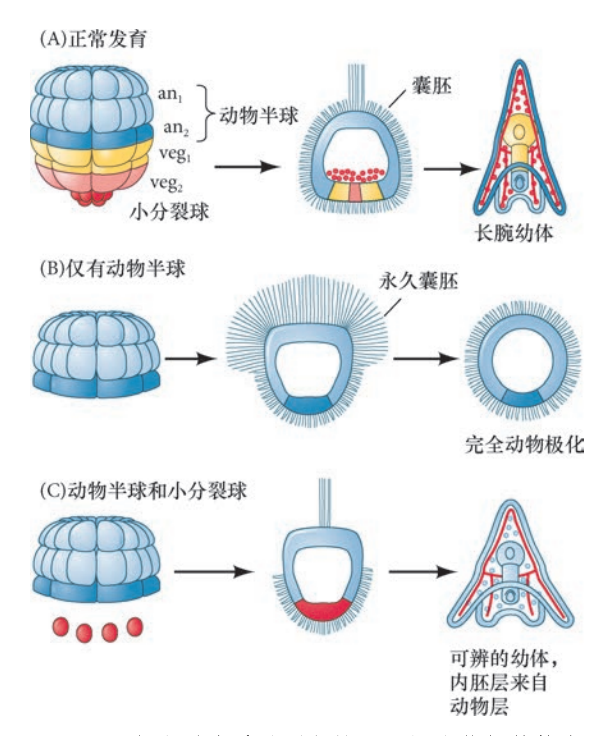


图 10.5　小分裂球诱导预定外胚层细胞获得其他命运的能力。(A) 60 细胞期海胆胚胎的正常发育，显示不同细胞层的命运。(B) 一个分离的动物半球变成一个纤毛球，由未分化的外胚层细胞组成，称为 Dauerblastula（永久囊胚）。(C) 一个分离的动物半球与一些分离的小分裂球组合后可形成一个清晰可辨的长腕幼体，其全部的内胚层来源于动物半球（参考 Hörstadius 1939）。

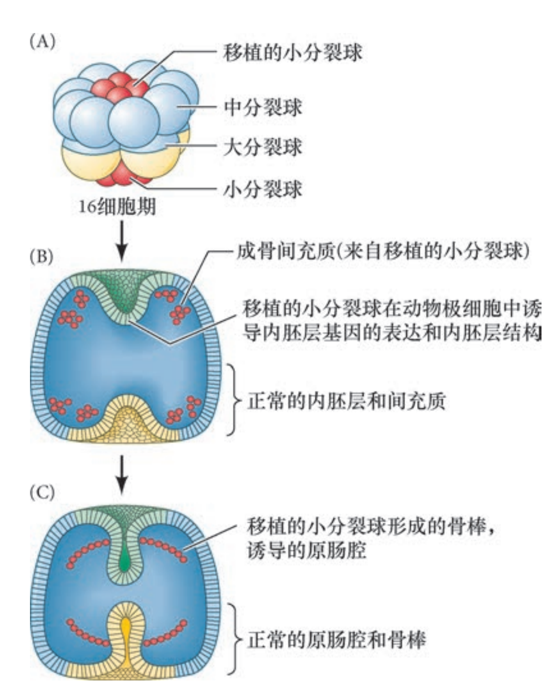


图 10.6　小分裂球在海胆胚胎中诱导形成第二体轴的能力。(A) 16 细胞期胚胎植物极的小分裂球被移植到 16 细胞期受体胚胎的动物极。(B) 移植的小分裂球内陷进入囊胚腔，产生一组新的成骨间充质细胞，并且诱导与它们相邻的动物极细胞变成植物板内胚层细胞。(C) 移植的小分裂球分化成骨棒，而被诱导的动物帽细胞形成第二个原肠腔。同时，受体胚胎中原来的植物板依然进行正常的原肠胚形成（参考 Ransick and Davidson 1993）。

> **观察发育 10.1**　“A Sea-Biscuit Life”（“一个压缩饼干的生命”）是一个拍摄精美和配有字幕的视频，按时间顺序记录了沙海胆（另一种棘皮动物，基本上是一种扁平的海胆）的发育。

10.1.4　基因调控网络和成骨间充质的特化

据胚胎学家 E. B. Wilson 所说，遗传是发育的某一种特定图式从一代传递到下一代，而进化是这种图式的遗传性变异。Wilson 可能是第一个（他在 1895 年分析了海胆的发育）记述了发育的指令可能以某种

方式储存于染色体 DNA，并在受精时由染色体传递下去的科学家。然而，他却无从知道染色体信息如何将物质组织形成一个胚胎。

来自海胆发育生物学研究群体的一些工作已经开始证明 DNA 如何受到调节以特化细胞，并指令正在发育的个体进行形态发生（McClay 2016）。Eric Davidson 的研究组开创性地建立了一种研究发育的网络方法。他们将一些被转录因子彼此连接起来的顺式调节元件（如启动子和增强子）预测到一个逻辑回路（Davidson and Levine 2008；Oliveri et al. 2008；Peter and Davidson 2015）。这个网络从卵细胞质中的一些转录因子接收到第一个信号输入后通过以下方式进行自我组装：①一些母体转录因子识别编码另一些特定转录因子的基因的顺式调节元件的能力；②这组新的转录因子激活一些旁分泌信号途径，进而在邻近细胞中激活一些特定转录因子的能力。这些研究显示了海胆基因通过相互作用以特化和产生特定细胞类型的调节关系。研究人员把特化不同细胞类型的基因之间的相互联系称为一个**基因调控网络**（**gene regulatory network**，或者 **GRN**）。

网络话题 10.2 **Davidson 实验室的海胆发育研究计划** 与 Davidson 的实验室的海胆发育研究计划相关的一个链接拓展了 GRN 的概念，提供了示意图的更新，显示了海胆早期卵裂期细胞类型特化的即时解释。

在这里，我们将聚焦其中一个基因调控网络的最早期部分：海胆胚胎的成骨间充质细胞接收它们的发育命运和诱导特性。来自小分裂球的成骨间充质细胞自主特化，嵌入囊胚腔并变成幼体的骨骼。而且，如我们已经看到的那样，它们也能条件性地诱导相邻细胞变成内胚层（肠）和非成骨间充质（色素、体腔）（图 10.6）。

Dishevelled 和 β- 联蛋白：特化小分裂球 小分裂球谱系（以及胚胎的其余部分）的特化起始于未分裂卵细胞的内部。最初的调节信号输入是两个转录调节因子：Dishevelled 和 β- 联蛋白。两者都存在于细胞质，小分裂球在形成时（也就是在第四次卵裂时）就继承了这两个蛋白质。在卵子发生过程中，Dishevelled 定位于卵的植物极皮质（**图 10.7A**；Weitzel et al. 2004；Leonard and Ettensohn 2007），它能阻止小分裂球和 veg_2 层大分裂球中 β- 联蛋白的降解。而后，β- 联蛋白进入细胞核，与 TCF 转录因子结合，通过特异的启动子激活基因的表达。

有多个证据显示 β- 联蛋白特化小分裂球。首先，在海胆的正常发育过程中，β- 联蛋白在那些注定成为内胚层和中胚层细胞的细胞核中积累（**图 10.7B**）。这种积累是自主性的，即使将小分裂球前体从胚胎中分离出来，这种积累仍然能够发生。其次，这种细胞核内的积累似乎参与特化胚胎的植物半球。细胞核内 β- 联蛋白的累积水平可能有助于决定植物极细胞的中胚层和内胚层命运（Kenny et al. 2003）。用氯化锂处理海胆胚胎能使 β- 联蛋白在所有的细胞中积累，导致预定外胚层转变成内胚层（**图 10.7C**）。相反，利用实验手段抑制 β- 联蛋白在植物极细胞核中的累积能阻止中胚层和内胚层的形成（**图 10.7D**；Logan et al. 1998；Wikramanayake et al. 1998）。

Pmar1 和 HesC：一个双负阀 小分裂球的下一个调节信号输入来自转录因子 Otx，这个因子也富集在小分裂球的细胞质中。Otx 与 β- 联蛋白 /TCF 复合物在 *Pmar1* 基因的增强子上结合，在小分裂球形成后不久激活 *Pmar1* 的转录（**图 10.8A**；Oliveri et al. 2008）。Pmar1 蛋白是 *HesC* 基因的阻遏物，而 *HesC* 编码另一个抑制性转录因子。除了小分裂球之外，*HesC* 在海胆胚胎的每一个细胞核中都表达[2]。

在小分裂球中，*Pmar1* 被激活而 *HesC* 基因被抑制。一个阻遏物关闭一些特化基因，而这些基因又能被这一阻遏物的阻遏物所开启（换句话说，抑制一个阻遏物使基因激活）。这一机制被称为**双负**

[2] 这是成骨基因调控网络的过度简化版。在通往小分裂球特化的途中，其他转录因子也必须表达，而且母体转录因子 SoxB1 必须从小分裂球中被去除，否则它将抑制 *Pmar1* 的激活。此外，这里没有考虑细胞骨架突起对细胞的分隔，以及对蛋白质的锚定作用。对于这一模型的完整细节，网络话题 10.2 中引述的网站有持续更新的内容。

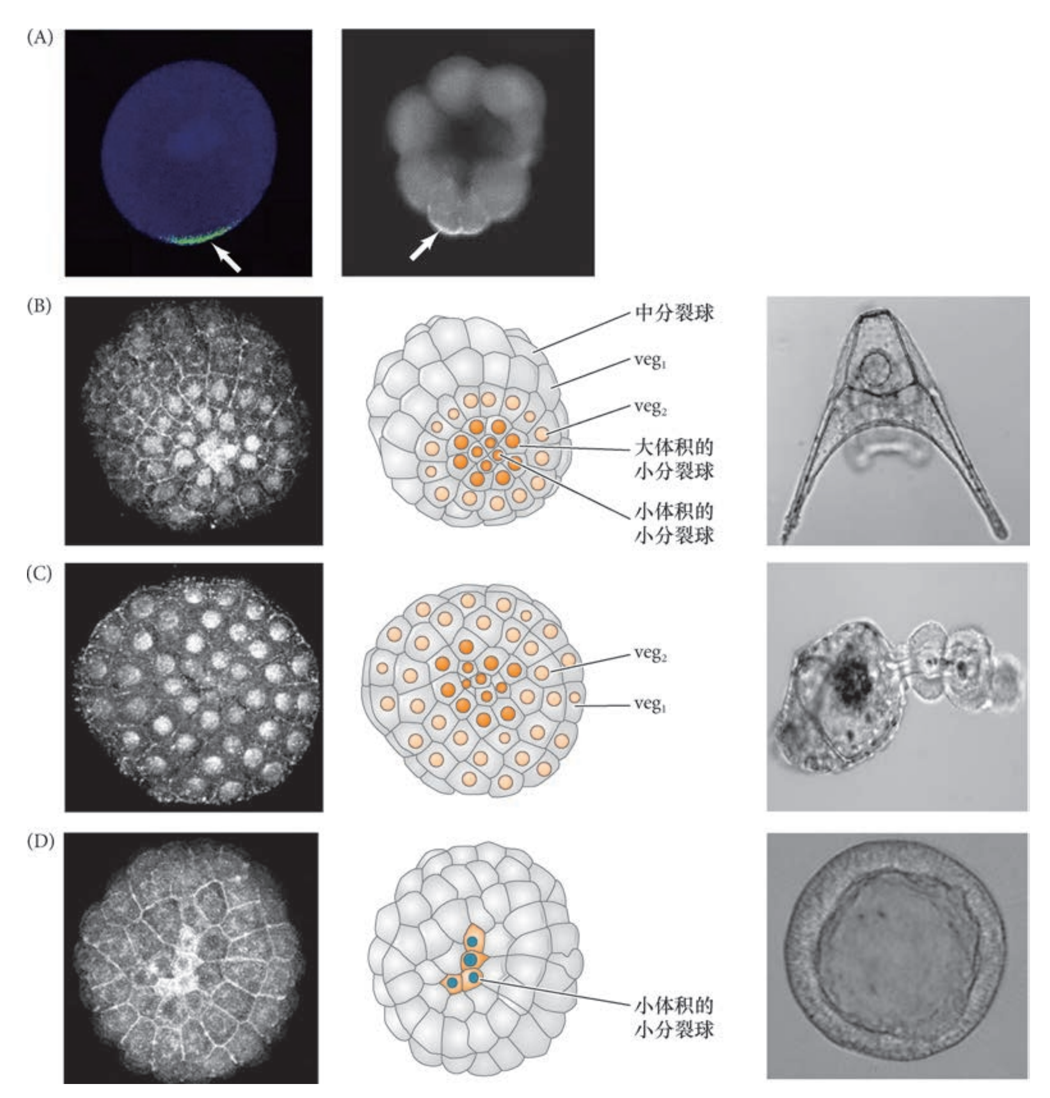


图 10.7　Dishevelled 和 β- 联蛋白在特化海胆胚胎植物极细胞中的作用。(A) Dishevelled（箭所示）在受精前定位于海胆卵母细胞中的植物极皮质（左），以及 16 细胞期胚胎中将要成为小分裂球的区域（右）。(B) 在正常发育过程中，β- 联蛋白主要在小分裂球中积累，在 veg_2 层细胞中也有相对较少的积累。(C) 在用氯化锂处理的胚胎中，β- 联蛋白在囊胚的所有细胞中都有累积（可能是由于氯化锂对 Wnt 信号途径中糖原合成酶激酶 -3 活性的抑制作用），动物极细胞被特化成内胚层和中胚层。(D) 如果阻止 β- 联蛋白进入细胞核（也就是滞留在细胞质中），植物极细胞的命运不能被特化，整个胚胎发育成一个具有纤毛的外胚层细胞球（来自 Weitzel et al. 2004，图由 C. Ettensohn 提供，以及来自 Logan et al. 1998，图由 D. McClay 提供）。

阀（**double-negative gate**；图 10.8B 和图 10.9A）。这样的双负阀为细胞命运的特化提供了严谨的调控：在有信号输入的位置，它促进这些基因的表达，但在所有其他细胞类型中它又抑制相同基因的表达（Oliveri et al. 2008）。

被 HesC 抑制的基因是一些参与小分裂球特化和分化的基因：*Alx1*、*Ets1*、*Tbr*、*Tel* 和 *SoxC*。它们都能被一些广谱转录因子激活。然而，当 HesC 阻遏物蛋白与这些基因的增强子结合时，这些正调控转录因子就不能发挥功能。当 Pmar1 蛋白存在时，它抑制 *HesC*，因此所有这些基因都被激活（Revilla-i-Domingo et al. 2007）。新激活的基因合成一些转录因子，进而激活另外一些基因，其中的大部分是激活骨骼决定物的基因。这些转录因子中的一部分也相互激活彼此的基因。因此，一旦一个因子被激活，它就能维持其他成骨基因的活性。这样就可以稳定成骨间充质细胞的调节状态（见 Peter and Davidson 2016）。

小分裂球保持它们的特化状态的另一种方式是分泌一个自分泌因子，即 Wnt8（Angerer and Angerer

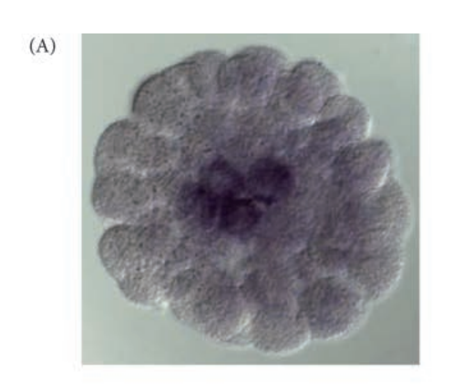


图 10.8 小分裂球特化过程中双负阀“回路”的简单图示。(A) 原位杂交显示 *Pmar1* 的 mRNA（暗紫色）在小分裂球中的累积。(B) OTX 是一个通用转录因子，而源自母体细胞质的 β- 联蛋白在卵的植物极富集。这些转录调节因子由小分裂球继承，并激活 *Pmar1* 基因。*Pmar1* 编码一个 *HesC* 的阻遏物；*HesC* 也编码一个能抑制参与小分裂球特化的一些基因（如 *Alx1*、*Tbr* 和 *Ets*）的阻遏物（因此被称为“双负”）。编码一些信号蛋白的基因（如 *Delta*）也受 HesC 的调控。在小分裂球中，因为活化的 Pmar1 抑制 *HesC* 阻遏物，因此小分裂球的特化和信号基因被活化。在 veg_2 细胞中，*Pmar1* 未被激活，*HesC* 基因的产物关闭成骨基因。然而，表达 Notch 的细胞对来自成骨间充质的 Delta 信号做出应答。基因表达的图式显示在下方。U 代表一些广谱的激活转录因子（参考 Oliveri et al. 2008；照片由 P. Oliveri 提供）。

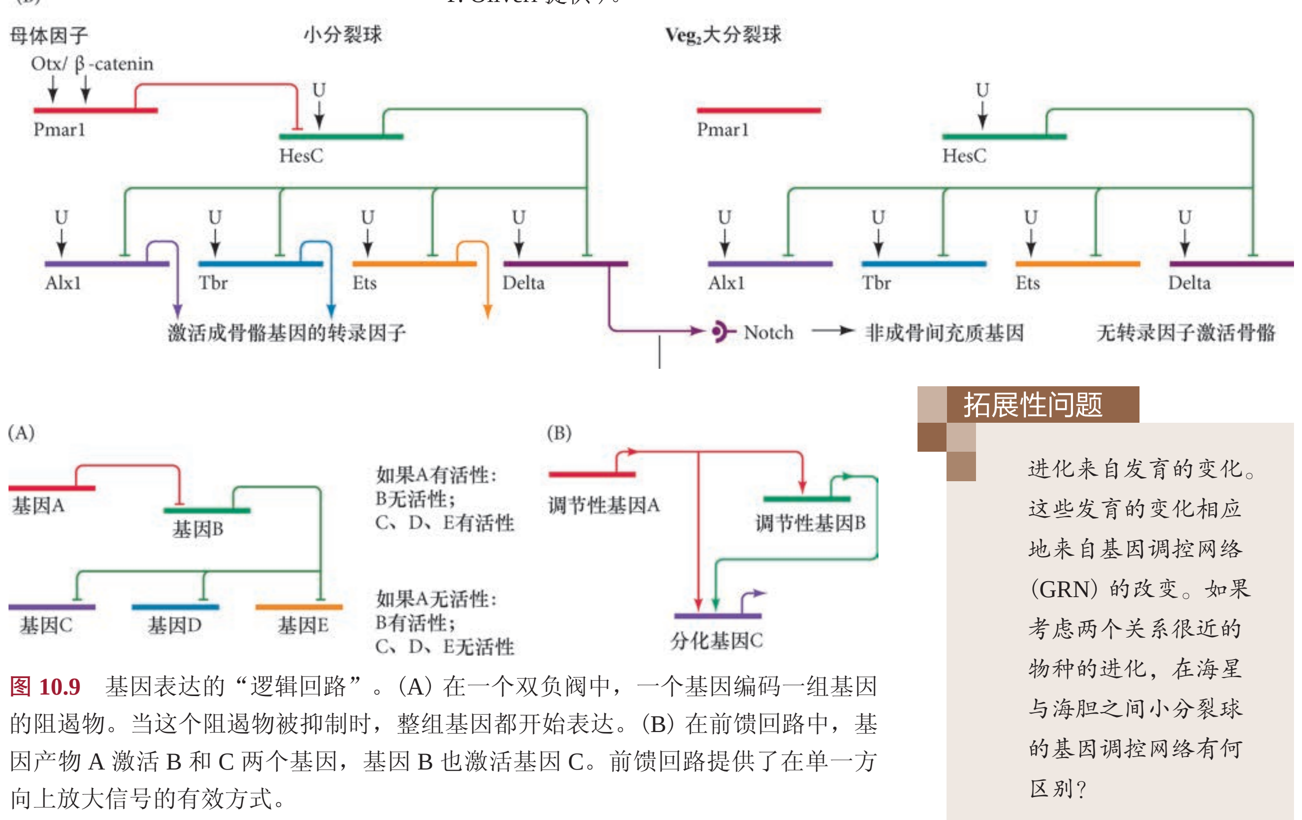


图 10.9 基因表达的“逻辑回路”。(A) 在一个双负阀中，一个基因编码一组基因的阻遏物。当这个阻遏物被抑制时，整组基因都开始表达。(B) 在前馈回路中，基因产物 A 激活 B 和 C 两个基因，基因 B 也激活基因 C。前馈回路提供了在单一方向上放大信号的有效方式。

拓展性问题

进化来自发育的变化。这些发育的变化相应地来自基因调控网络 (GRN) 的改变。如果考虑两个关系很近的物种的进化，在海星与海胆之间小分裂球的基因调控网络有何区别？

2000；Wikramanayake et al. 2004)。小分裂球一经形成，母体 β- 联蛋白和 Otx 就会激活 *Blimp1* 基因，其产物（与更多的 β- 联蛋白协同作用）激活 *Wnt8* 基因。而后，Wnt8 被分泌它的小分裂球接收（也就是自分泌调节），激活小分裂球自身的 β- 联蛋白基因。由于 β- 联蛋白激活 *Blimp1* 基因，这种自分泌调节在 Blimp1 和 Wnt8 之间建立了一个正反馈环，因此为小分裂球细胞核建立一个 β- 联蛋白的来源。同等重要的是，这种交互调节的环路使两个基因被锁定在“开启”状态，并且能够放大它们的表达水平。

与特化小分裂球的双负阀相反，海胆骨骼细胞中分化基因的调控使用一个前馈的过程（图 10.9B）。在这里，调节基因 A 产生一个分化基因 C 所需的转录因子，同时也激活调节基因 B，而基因 B 也产生一个分化基因 C 所需的转录因子。这样一个前馈过程能稳定基因的表达，使产生的细胞类型不可逆转。

通过子程序的选择而产生进化 小分裂球基因调控网络中的成骨部分（图 10.8B）似乎来自一个网络子程序的招募，而这个子程序在大多数棘皮动物（包括海胆）中都被用于构建成体骨骼 (Gao and Davidson 2008；Erkenbrack and Davidson 2015)。一些子程序被一个新的谱系共同选择是发生进化的方式之一。实际上，海胆小分裂球的基因调控网络与其他棘皮动物胚胎很不相同。只有海胆的成骨子程序受控于特化小分裂球谱系的一些基因；在所有其他的棘皮动物中，骨骼形成的过程在发育的晚期才被激活。

最重要的进化事件是将成骨基因 *Alx1* 和 *Ets1*（对成体骨骼的发育是必需的）、*Tbr*（用于晚期幼体骨骼的形成）置于 *Pmar1-HesC* 双负阀的调控之下。这是通过一些顺式调控区域的突变而产生的。因此，区分海胆小分裂球的成骨特性似乎来自小分裂球基因调控体系对一个已经存在的成骨调控体系的招募。

10.1.5 植物极细胞的特化

成骨小分裂球也产生一些能诱导其他组织发生变化的信号。其中之一就是转化生长因子 -β 家族的旁分泌因子激活蛋白。激活蛋白的基因也受控于 *Pmar1-HesC* 双负阀，并且它的分泌似乎对内胚层的形成至关重要（Sethi et al. 2009）。的确，如果将 *Pmar1* 的 mRNA 注射到一个动物极细胞，这个细胞将发育为成骨间充质细胞，而且与这个细胞相邻的细胞将发育成类似于大分裂球的细胞（Oliveri et al. 2002）。如果激活蛋白信号被抑制，相邻的细胞就不能变成内胚层细胞[3]（Ransick and Davidson 1995；Sherwood and McClay 1999；Sweet et al. 1999）。

来自小分裂球的另一个细胞特化信号是近分泌蛋白 Delta，它也是一个由双负阀控制的因子。Delta 通过激活相邻 veg_2 细胞的 Notch 蛋白而发挥功能，而且在后期也将作用于相邻的小分裂球。Delta 通过激活 Gcm 转录因子及抑制 FoxA 转录因子（激活内胚层特异基因）使 veg_2 细胞变成非成骨间充质细胞。上层的 veg_2 细胞因为没有接收 Delta 信号而维持 FoxA 的表达，这样就促使它们向内胚层细胞的命运分化（Croce and McClay 2010）。

总之，海胆小分裂球的基因以自主的方式特化它们自身的细胞命运，同时也条件性地特化相邻细胞的命运。最初的信号输入来自母体细胞质，并激活一些解锁特定细胞命运阻遏物的基因。一旦母体细胞质因子完成这个功能，细胞核基因组将接管后续的工作。

10.2 海胆的原肠胚形成

建筑师 Frank Lloyd Wright 在 1905 年写到：“形式和功能应该是一个整体，共同加入到一个崇高的联盟”。Wright 从未用海胆骨骼激发灵感，但其他建筑师（比如 Antoni Gaudi）也许会。海胆典型的**长腕幼体**（**pluteus larva**）是一个摄食结构，其形式和功能很好地整合在一起。

海胆的晚期囊胚是一个由大约 750 个上皮细胞组成的单细胞层中空球状结构，在植物极处稍微扁平。这些卵裂球来源于合子的不同区域，具有不同的大小和特征。命运注定成为内胚层（肠）和中胚层（骨骼）的细胞仍然在外面，需要通过原肠胚形成的方式将它们带到胚胎内部。

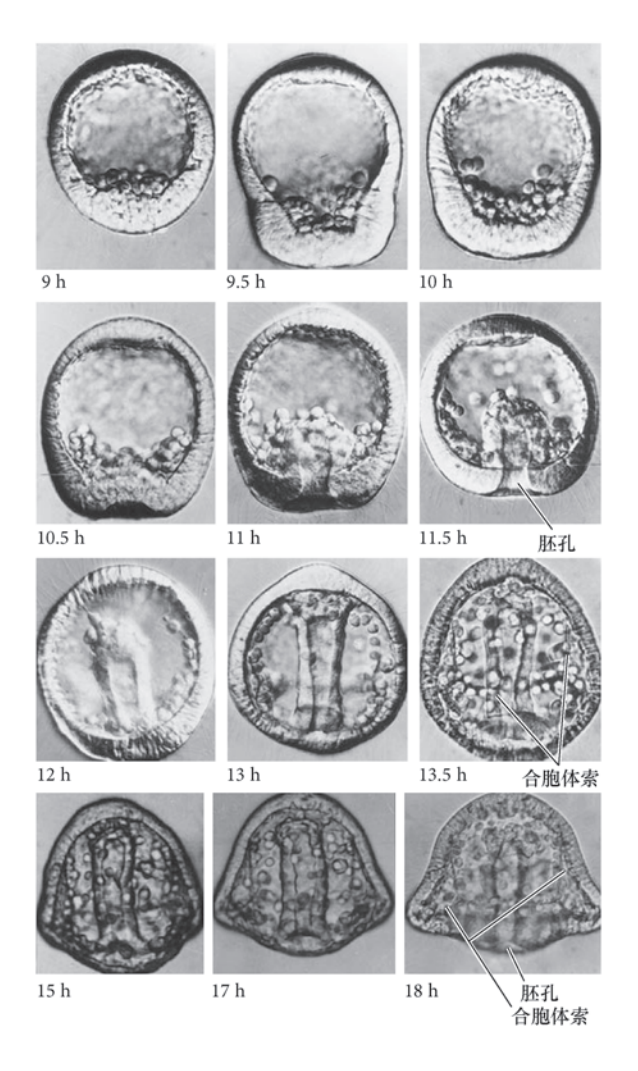
科学家讲座 10.1 Jeff Hardin 博士提供一个关于海胆原肠胚形成的简单教程。

10.2.1 成骨间充质的内移

图 10.10 显示了囊胚经过原肠胚形成到长腕幼体时期（24 h）的发育过程。在囊胚从受精膜中孵化出来不久，大体积的小分裂球的后代细胞进行上皮到间充质转换。上皮细胞改变形状，失去与相邻细胞之间的黏附，从上皮中脱离后作为成骨间充质细胞进入囊胚腔（图 10.10，9 ～ 10 h）。而后，成骨间充质细胞开始伸展和收缩它们的细长细胞突出（直径为 250nm，长为 25 μm），这些突出称为**丝足**（**filopodium**）。最初，细胞似乎沿着囊胚腔内表面随机运动，与囊胚腔壁活跃地形成和断开丝足连接。然而，它们最终

---

[3] 回想一下图 10.6 中的实验，这些实验显示移植到胚胎动物半球的小分裂球能够诱导第二个体轴的形成。然而，如果在小分裂球中阻止 β- 联蛋白进入细胞核，那么小分裂球就不能诱导动物极细胞形成内胚层，也就没有第二个体轴的产生（Logan et al. 1998）。β- 联蛋白也在大分裂球中累积，但通过不同的方式，并且 *Pmar1* 基因在大分裂球中也不被激活（可能是由于 SoxB1 的存在；见 Kenny et al. 2003 和 Lhomond et al. 2012）。



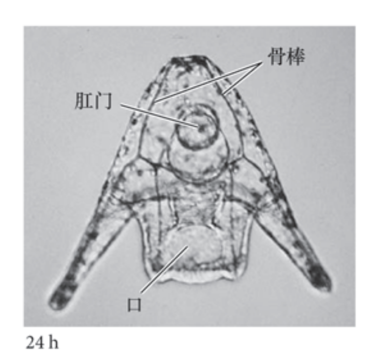


图 10.10 绿海胆（*Lytechinus variegatus*）原肠胚形成的全部过程。显示胚胎在 25℃的发育时间（图由 J. Morrill 提供；从初始的植物极处观察的长腕幼体图由 G. Watchmaker 提供）。

定位于囊胚腔的预定腹侧区域。在这里，它们融合形成一些合胞体索，然后再形成幼体骨棒中碳酸钙骨针的轴。与特化成骨间充质细胞相同的一个基因调控网络协调这个过程。

上皮到间充质转换 大体积的小分裂球的后代细胞向囊胚腔内移是因为它们失去了与相邻细胞及透明膜之间的亲和性，取而代之的是这些细胞获得了与内衬囊胚腔的一组蛋白质之间的强亲和力。最初，囊胚的所有细胞在其外表面与透明膜相连，在内表面与细胞分泌的基底膜相连。在它们的侧表面，每个细胞都与另一个细胞相邻。Fink 和 McClay 发现，预定外胚层和内胚层细胞（分别是中分裂球和大分裂球的后代细胞）彼此紧密结合，它们也与透明膜紧密结合，但与基底膜仅有松散的粘连。小分裂球在最初也有相似的结合图式。然而，这个图式在原肠胚形成时发生改变。在其他细胞与相邻细胞及透明膜继续维持紧密结合时，成骨间充质前体细胞失去了针对这些结构的亲和力（下降至初始值的大约 2%），但与基底膜和细胞外基质成分的亲和力却增加了 100 倍。这样就完成了一个**上皮到间充质转换**（**epithelial-to-mesenchymal transition**，**EMT**）的过程，其中曾经是上皮的一部分细胞失去了它们的黏附性而变成单个的迁移细胞（**图 10.11A**；也见第 4 章的内容）。

上皮到间充质转换在整个动物发育过程中都是重要的事件，肿瘤细胞的上皮到间充质转换途径也被重新审视，因为它通常对形成次级肿瘤位点是必需的。上皮到间充质转换有 5 个不同的过程，并且所有这些事件都受控于特化和产生成骨间充质的小分裂球基因调控网络。然而，每个过程都受一组不同的转录因子调控。更令人惊讶的是，没有一个转录因子是上皮到间充质转换的“主调节物”（Saunders and McClay 2014）。具体过程如下：

1. 顶 - 基极性。囊胚的植物极细胞伸长，形成一个增厚的“植物板”上皮（图 10.10，9 h）。

2. 小分裂球的顶端束紧。细胞改变形状，顶端（远离囊胚腔）收缩。在脊椎动物和无脊椎动物的原肠胚形成和神经胚形成过程中都存在顶端束紧，这是与形态发生相关的最重要的细胞形状变化之一（Sawyer et al. 2010）。

3. 基底膜重塑。细胞必须经过具有层粘连蛋白的基底膜。最初，这个膜均匀地围绕着囊胚腔。然而，在间充质细胞进入囊胚腔之前不久，小分裂球细胞分泌一些蛋白酶（消化蛋白的酶），在基底膜上消化出一个孔洞（**图 10.11B ～ D**）。

4. 脱黏附。将上皮细胞联结在一起的一些钙黏着蛋白被降解，使得一些细胞与相邻的细胞脱离。钙黏着蛋白表达的下调受转录因子 Snail 的调控。*snail* 基因被 Alx1 转录因子激活，而 Alx1 则受基因调控网路的双负阀调节（Wu et al. 2007）。转录因子 Snail 在整个动物界（包括肿瘤）都参与细胞的脱黏附。

5. 细胞运动性。基因调控网络中的转录因子激活那些使细胞从上皮主动迁移并进入囊胚腔的蛋白质。其中最关键的转录因子之一是 Foxn2/3。这个转录因子也调节神经嵴细胞在完成上皮到间充质转换之后的运动（以形成脊椎动物的面部）。在囊胚腔内，细胞与细胞外基质蛋白结合并沿着这些蛋白质运动（**图 10.11E，F**）。

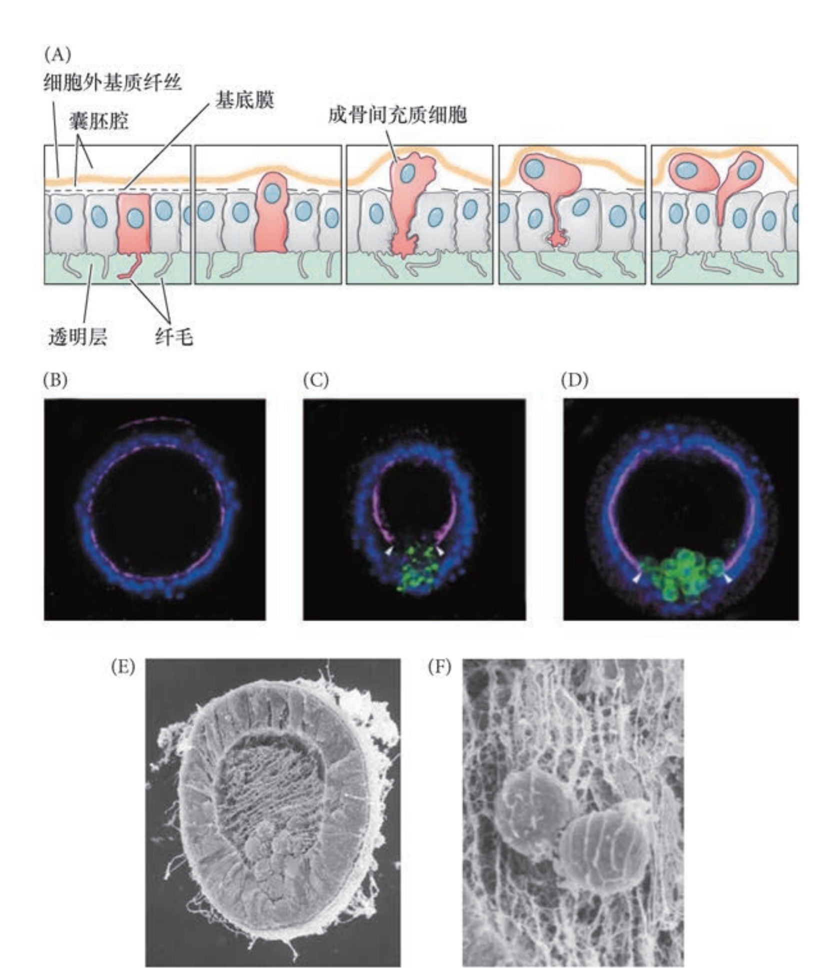
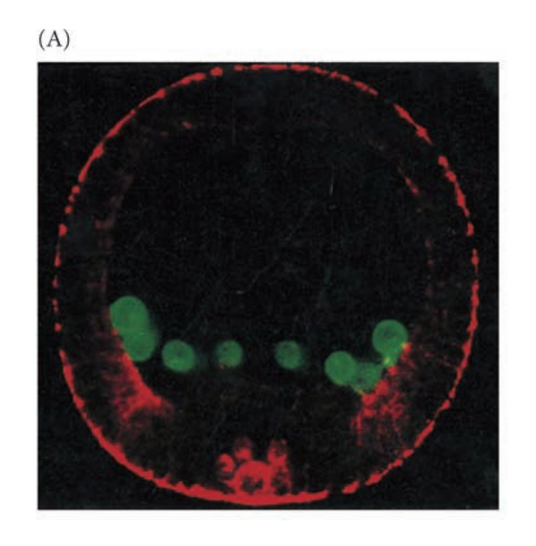


图 10.11 成骨间充质细胞的内移。(A) 对预定成骨间充质细胞（粉色）黏附亲和力变化的解释性描述。这些细胞失去与透明蛋白和相邻卵裂球的亲和力，同时获得了与一些基底膜蛋白的亲和力。非间充质卵裂球保持它们与透明层及相邻细胞原有的强亲和力。(B ～ D) 成骨间充质细胞穿过细胞外基质。基质的层粘连蛋白被染成粉色，间充质细胞呈绿色，细胞核为蓝色。(B) 层粘连蛋白基质均匀分布于囊胚腔的内衬。(C) 在植物极细胞的上方，囊胚腔的层粘连蛋白被消化出一个孔洞，间充质细胞开始通过这个孔进入囊胚腔。(D) 细胞在 1 h 之内进入囊胚腔。(E) 扫描电镜照片显示成骨间充质细胞陷入海胆 (*Strongylocentrotus*) 早期原肠胚的细胞外基质。(F) 原肠胚时期的间充质细胞迁移。囊胚腔的细胞外基质纤丝与动 - 植物极轴平行排列，并与成骨间充质细胞紧密联结 (B ～ D 图由 David McClay 提供；E 图和 F 图来自 Cherr et al. 1992，由作者提供)。

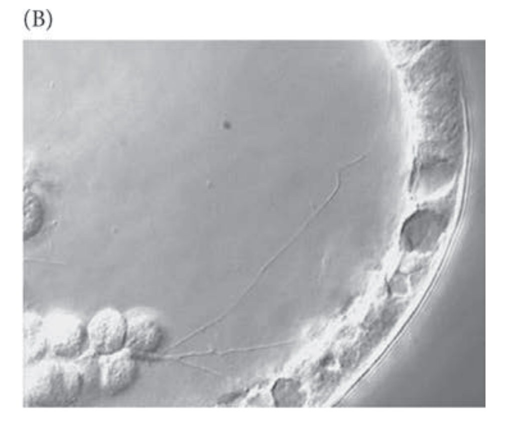
选择性迁移、细胞融合和骨形成（如生物矿化蛋白）所需的蛋白质也受一些被双负阀激活的转录因子（如 Alx1、Ets1 及 Tbr）所调节（Rafiq et al. 2014）。在靠近幼体未来腹侧的两个位置，许多成骨间充质细胞聚集成簇，彼此融合，开始形成骨针（Hodor and Ettensohn 1998；Lyons et al. 2015）。如果将来自另一个胚胎的小分裂球标记后注射进一个正在进行原肠胚形成的海胆胚胎的囊胚腔，它将迁移至正确的位置，并参与胚胎骨针的形成（Ettensohn 1990；Peterson and McClay 2003）。预定外胚层细胞及其基底膜被认为能

提供必要的位置信息（图 10.12A；Harkey and Whiteley 1980；Armstrong et al. 1993；Malinda and Ettensohn 1994）。只有成骨间充质细胞（而不是其他类型的细胞或者乳胶微球）才能够对这些信息做出应答（Ettensohn and McClay 1986）。成骨间充质细胞上极为纤细的丝足能探测和感受囊胚腔壁，而且似乎能够感受来自外胚层的背 - 腹轴和动 - 植极轴方向的图式信息（图 10.12B；Malinda et al. 1995；Miller et al. 1995）。

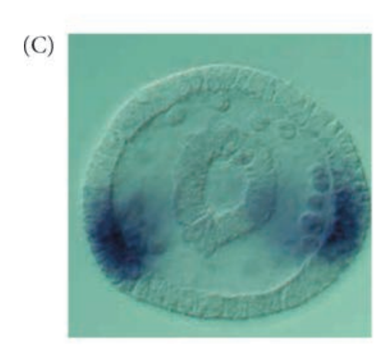
(A)



(B)



(C)



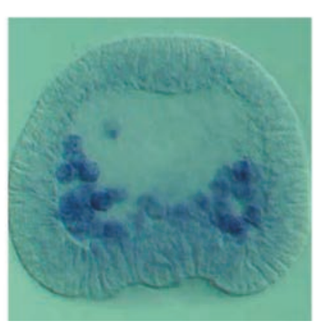
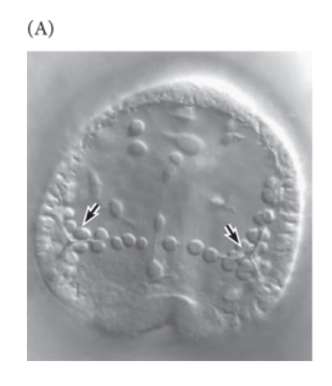


图 10.12 海胆成骨间充质细胞的定位。(A) 形成碳酸钙骨骼的小分裂球的位置受外胚层细胞决定。成骨间充质细胞被染成绿色，β- 联蛋白呈红色。成骨间充质细胞似乎在具有高浓度 β- 联蛋白的那些区域积累。(B) 干涉差显微镜视频照片显示一个成骨间充质细胞向原肠胚的外胚层壁延伸出细长的丝足，以及外胚层向内延伸出较短的丝足。间充质的丝足延伸通过细胞外基质，与外胚层细胞的细胞膜直接接触。(C) 通过原肠腔的横切面（上），表面外胚层中成骨小分裂球聚集的特定区域表达成纤维细胞生长因子。而且，内移的成骨小分裂球（下；纵切面）表达成纤维细胞生长因子的受体。当成纤维细胞生长因子信号途径被抑制时，骨骼不能正常形成 (B 图来自 Miller et al. 1995，照片由 J. R. Miller 和 D. McClay 提供；C 图来自 Röttinger et al. 2008，照片由 T. Lepage 提供）。

囊胚腔壁分泌的两个信号对这一迁移似乎有关键的作用。成骨间充质细胞将要聚集的两个小的外胚层区域分泌血管内皮细胞生长因子（Duloquin et al. 2007），成纤维细胞生长因子来自内胚层和外胚层之间的赤道带，被限制在成骨间充质细胞聚集的旁侧区域（图 10.12C；Röttinger et al. 2008；McIntyre et al. 2014）。成骨间充质细胞迁移至这些血管内皮细胞生长因子和成纤维细胞生长因子的合成位置，并沿动物 - 植物极轴将它们自身排列成一个环（图 10.13）。这些旁分泌因子的受体似乎受双负阀特化（Peterson and McClay 2003）。

网络话题 10.3 **海胆胚胎体轴的特化** 在早期原肠胚形成过程中，Nodal 蛋白决定了海胆长腕幼体的口面 - 反口面体轴。在原肠胚形成的后期及幼体早期，Nodal 特化幼体的右侧。



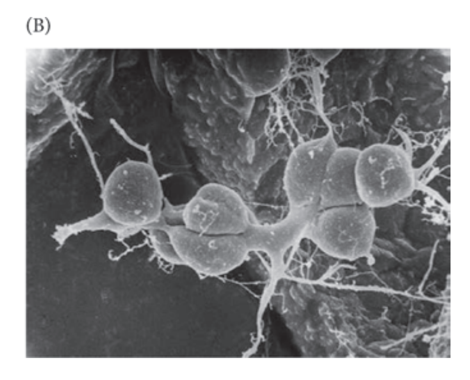


图 10.13　海胆成骨间充质细胞形成的合胞体索。(A) 早期原肠胚的成骨间充质细胞排列和融合后产生碳酸钙骨针的基质（箭所示）。(B) 扫描电子显微镜照片显示成骨间充质细胞融合后形成合胞体索 (A 图来自 Ettensohn 1990；B 图来自 Morrill and Santos 1985)。

10.2.2　原肠腔的内陷

原肠腔内陷的第一阶段　当成骨间充质细胞离开球形胚胎的植物极区域时，依然停留在那里的一些细胞正在发生重要的变化。这些细胞增厚并变得扁平，形成植物板，因而改变囊胚的形状（见图 10.10，9 h)。植物板细胞维持彼此之间及与卵透明层的结合，它们通过迁移来填充由于成骨间充质内移而产生的间隙。植物板通过改变细胞形状进行内卷，而后内陷至囊胚腔 1/4 ～ 1/2 的位置，然后内陷突然停止。这个内陷的区域称为**原肠腔** (**archenteron**)，即原始消化道。原肠腔在植物极的开口是**胚孔** (**blastopore**；**图 10.14A**；见图 10.10，10.5 ～ 11.5 h)。

植物板向囊胚腔的运动似乎被植物板细胞的形状及其下部细胞外基质的变化所启动（见 Kominami and Takata 2004)。肌动蛋白微丝在植物极细胞的顶端聚集，使这一端束紧，形成向内褶皱的瓶状植物极细胞 (Kimberly and Hardin 1998；Beane et al. 2006)。用激光破坏这些细胞会延迟原肠胚形成。此外，由于透明层的组分发生了变化，它被植物板细胞引导而向内弯曲 (Lane et al. 1993)。

在成骨间充质细胞开始向囊胚腔内移的阶段，植物板细胞的命运已经被特化 (Ruffins and Ettensohn 1996)。非成骨间充质是第一批内陷的细胞，形成原肠腔的顶端，引导细胞向囊胚腔运动的路径。非成骨间充质将形成色素细胞、肠周围的肌肉组织，并且参与体腔囊的形成。与次级间充质（来源于大分裂球）相邻的内胚层细胞变成前肠，它们向囊胚腔内迁移的距离最远。下一层内胚层细胞变成中肠，而最后一个圆周的细胞内陷形成后肠和肛门（**图 10.14B**)。

原肠腔内陷的第二和第三阶段　第二阶段的原肠腔形成起始于初始内陷后的短暂停顿之后。原肠腔急剧延伸，其长度有时可达到原来的三倍。在这一延伸过程中，宽而短的肠原基转变为长而细的管

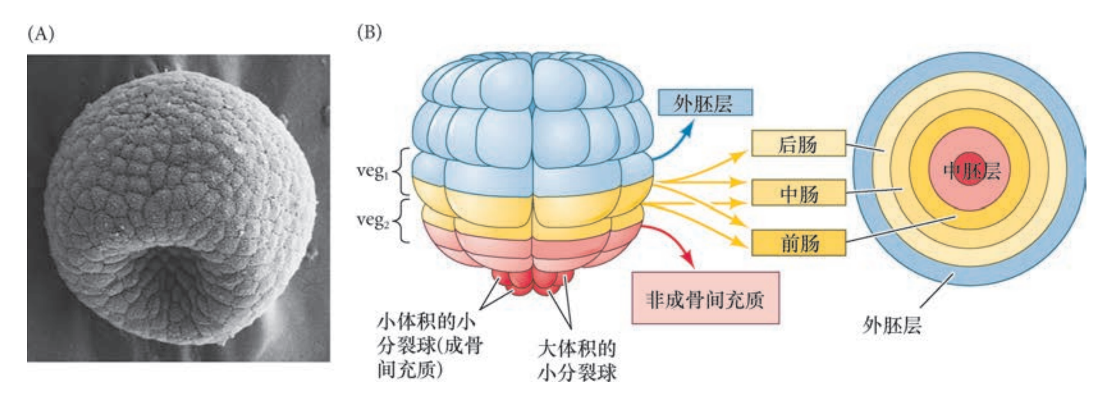


图 10.14　植物板的内陷。(A) 扫描电子显微镜观察绿海胆 (*Lytechinus variegatus*) 早期原肠胚的外部表面，显示植物板的内陷。胚孔清晰可见。(B) 海胆植物板的命运图谱，从植物极表面向“上”观察。中间部分变成非成骨间充质细胞。围绕它的同心层分别变成前肠、中肠和后肠。内胚层和外胚层接触的边界标志肛门。非成骨间充质和前肠来自 veg_2 细胞层，中肠来自 veg_1 和 veg_2 细胞，后肠和包围它的外胚层来自 veg_1 细胞层 (A 图来自 Morrill and Santos 1985，由 J. B. Morrill 提供；B 图参考 Logan and McClay 1999)。

（图 10.15A；见图 10.10，12 h）。为完成这一延伸过程，众多的细胞行为共同发挥作用。首先，内胚层细胞进入胚胎时进行增殖。其次，源自这些细胞的克隆彼此滑动，像一个望远镜的延伸。最后，细胞通过彼此嵌插而重排，犹如交通行车道的合并（Ettensohn 1985；Hardin and Cheng 1986；Martins et al. 1998；Martik et al. 2012）。细胞彼此嵌插使组织变窄同时也延伸的现象称为**集中延伸**（**convergent extension**）。

原肠腔延伸的最后阶段起始于非成骨间充质细胞所提供的张力，这些细胞在原肠腔的顶端形成并停留在那里。它们伸展出丝足，穿过囊胚腔液与囊胚腔壁的内表面相接触（Dan and Okazaki 1956；Schroeder 1981）。丝足在卵裂球之间的连接处与囊胚腔壁附着，之后变短，将原肠腔向上拉起（图 10.15B，C；见图 10.12，12 h 和 13 h）。Hardin（1988）用激光去除了海胆（*Lytechinus pictus*）原肠胚的非成骨间充质细胞，结果是原肠腔仅能延伸至正常长度的 2/3。如果仅剩下几个非成骨间充质细胞，原肠腔的延伸依然进行，但是速度减慢。因此，在这一物种中，非成骨间充质细胞在内陷后期对原肠腔向囊胚腔壁延伸具有必不可少的作用。

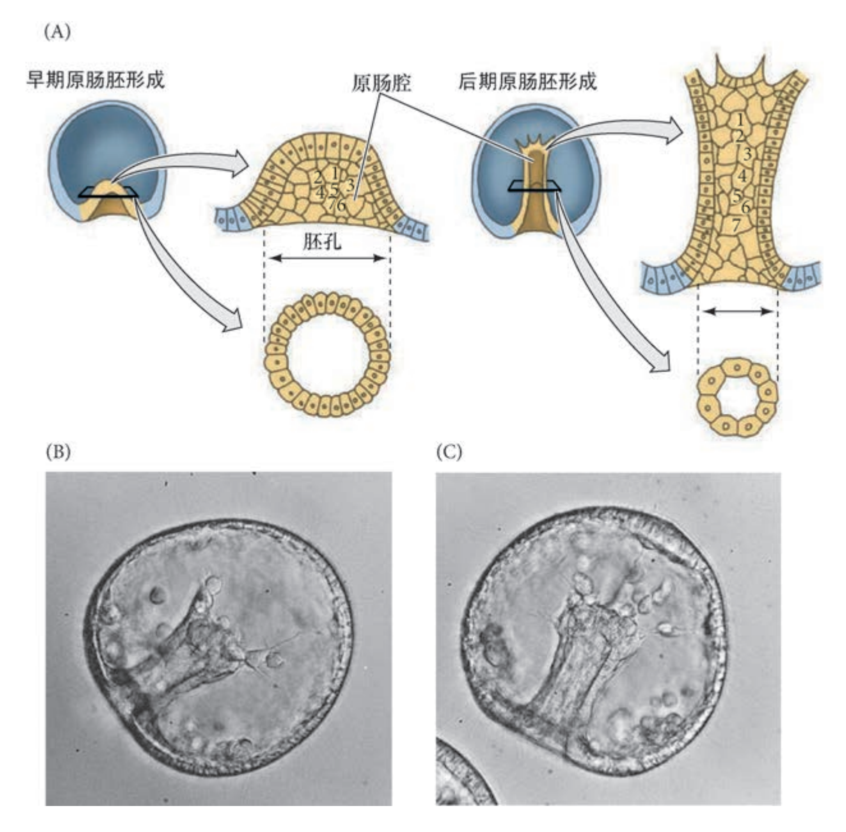


图 10.15 海胆胚胎原肠腔的延伸。（A）海胆胚胎原肠腔延伸过程中的细胞重排。在这个物种中，早期原肠腔的周围共有 20～30 个细胞。在原肠胚形成的晚期，原肠腔的周长仅由 6～8 个细胞组成。（B）在海胆（*Lytechinus pictus*）的原肠胚中期，非成骨间充质延伸出丝足突起。（C）丝足索连接囊胚腔壁和原肠腔顶端。丝足索在附着位点处拉动囊胚腔壁时，可看到它们产生的张力（A 图参考 Hardin 1990；B 图和 C 图由 C. Ettensohn 提供）。

但是，非成骨间充质细胞的丝足是否能附着在囊胚腔壁的任意位置，或者在动物半球是否有丝足的特异性附着位点？是否囊胚腔壁上的某个区域已经定型成为幼体的腹侧？Hardin 和 McClay（1990）的研究显示动物半球的确存在一个不同于其他区域的特异性丝足靶点。丝足延伸后随机地感触囊胚腔壁的不同位置，而后收缩。然而，当丝足与囊胚腔壁的一个特定区域接触时，它们便维持这种接触状态，而且贴着这个区域变得扁平，将原肠腔拉向这个位置。当 Hardin 和 McClay 轻戳囊胚腔壁的另一侧，使这一区域最易产生接触时，丝足依然延伸但在接触后缩回。只有丝足发现其目标组织后才会停止这些运动。如果原肠胚被束紧，使丝足没有接触其靶区域的机会，那么非成骨间充质细胞仍然继续搜索，直到它们最终从原肠腔壁上脱离下来，作为自由迁移的细胞搜寻其靶点。因此，似乎有一个被非成骨间充质细胞识别和将来形成幼体腹侧的靶区域，这个位置使原肠腔处在邻近形成口部的区域。所以，作为后口动物的一个典型特征，胚孔标记肛门的位置。

随着原肠腔顶部与囊胚腔壁在靶区域的接触，许多非成骨间充质细胞向囊胚腔中散播，并在那里增殖，

形成中胚层器官（见图 10.10，13.5 h）。原肠腔与囊胚腔壁的接触位置最终形成口。口与原肠腔融合后形成长腕幼体中连续的消化管。从长腕幼体到成体海胆所经历的非凡变态过程将在第 21 章描述。

观察发育 10.2　一个记录海胆原肠腔形成过程的视频。

10.3　被囊动物的早期发育

被囊动物（也被称为海鞘）是一些令人着迷的动物，这有多种原因，但最主要的是它们在进化上与脊椎动物的亲缘关系最近。Lemaire（2009）写到："看着一个成体的海鞘，我们很难，也有种自降身份的感觉，去想象这些创造物会是我们的近亲"。即便是被囊动物在它们的生命史的任何阶段都没有脊椎，但自由游动的被囊动物幼体或者"蝌蚪"，具有脊索和背部神经索，使这些动物成为无脊椎脊索动物（见图 10.1）。当蝌蚪经历变态时，它的神经索和脊索退化，并且分泌出一个纤维素被囊，这就是被囊动物名称的由来。

10.3.1　卵裂

被囊动物具有**两侧完全卵裂**（**bilateral holoblastic cleavage**；**图 10.16**）。这种卵裂最显著的特征是第一次卵裂面就建立了胚胎最早的对称轴，把胚胎未来的左右两侧分开。后续的每一次分裂都面向这个对称面，并且在第一次卵裂面的一侧形成的半个胚胎是另一侧半个胚胎的镜像[4]。像第一次卵裂一样，第二次卵裂也是经向卵裂，但与第一次卵裂不同的是，第二次卵裂不经过卵的中心。由此产生两个大的前部细胞（A 和 a 卵裂球）和两个小的后部细胞（B 和 b 卵裂球）。现在每一侧都有一个大的和一个小的卵裂球。

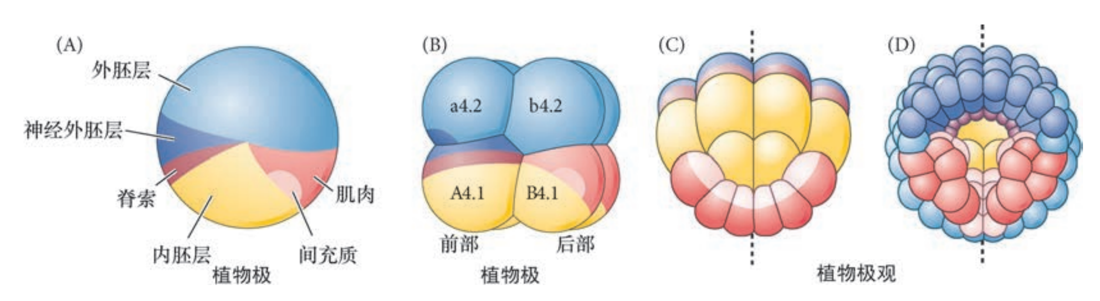


图 10.16　被囊动物海鞘（*Styela partita*）卵的两侧对称（图 1.12C 显示了 *Styela* 的细胞谱系）。(A) 未分裂的卵。这里标记了将来形成特定器官的细胞质区域，在示意图中用不同的颜色显示。(B) 8 细胞胚胎，显示不同卵裂球以及不同细胞的命运。这个胚胎的左右两侧各有 4 个细胞。从这时开始，胚胎右侧的每一次分裂都是左侧分裂的镜像。(C，D) 后期胚胎的植物极观。虚线显示两侧对称面（A 图参考 Balinsky 1981）。

的确，从 8 细胞到 64 细胞期，每一次细胞分裂都是不对称的，这使后部的卵裂球总是小于前部的卵裂球（Nishida 2005；Sardet et al. 2007）。在每一次这种不均等的卵裂之前，卵裂球后部的中心体向**中心体吸引小体**（**centrosome-attracting body**，**CAB**）迁移，这是一个由内质网组成的宏观亚细胞结构。CAB 通过 PAR 蛋白网络与细胞膜相连，PAR 蛋白网络将中心体在细胞内不对称地定位（像线虫一样；见图 8.17），以至于在这三次卵裂中每一次卵裂都形成一个大细胞和一个小细胞。CAB 也吸引一些特定的 mRNA（Hibino et al. 1998；Nishikata et al. 1999；Patalano et al. 2006），使它们处于每次卵裂产生的最后部

[4] 这个结论其实只是一个不错的粗略估计，的确，它已经延续了一个多世纪。然而，新的标记技术显示被囊动物胚胎后期存在某些左 - 右不对称（B. Davidson，个人交流）。

细胞（也就是较小的细胞）。以这种方式，CAB 将细胞图式形成与细胞决定整合起来[5]。在 64 细胞期，胚胎形成了一个小的囊胚腔，并且从植物极开始进行原肠胚形成。

10.3.2 被囊动物的命运图谱

大部分被囊动物的早期卵裂球是自主性特化的，每个细胞获得了决定其命运的特定细胞质。在许多被囊动物物种中，不同区域的细胞质具有不同的色素沉着，因此根据每个细胞所获取的细胞质类型就很容易判断细胞的命运。在受精过程中，细胞质的不同区域在卵中被划分。

图 2.4 显示了被囊动物柄海鞘（*Styela partita*）的命运图谱和细胞谱系。在未受精的卵中，一个中央灰色的细胞质区域被一个含有黄色脂质包含体的皮质包裹（**图 10.17A**）。在减数分裂期间，细胞核的分解释放出一种透明的物质，在卵的动物半球积累。在精子入卵后的 5 min 内，内部透明和黄色的皮质细胞质收缩到卵的植物（下）半球（Prodon et al. 2005，2008；Sardet et al. 2005）。在雄原核沿着胚胎的未来后部从植物极向赤道区迁移时，黄色的脂质包含体也随之迁移。这一迁移形成**黄新月**（**yellow crescent**），从植物极延伸至赤道区（**图 10.17B ～ D**）。这一区域将产生幼体的大部分尾部肌肉。这些细胞质区域的运动依赖于精子中心粒产生的微管，以及使动物极细胞质收缩的钙离子波动（Sawada and Schatten 1989；Speksnijder et al. 1990；Roegiers et al. 1995）。

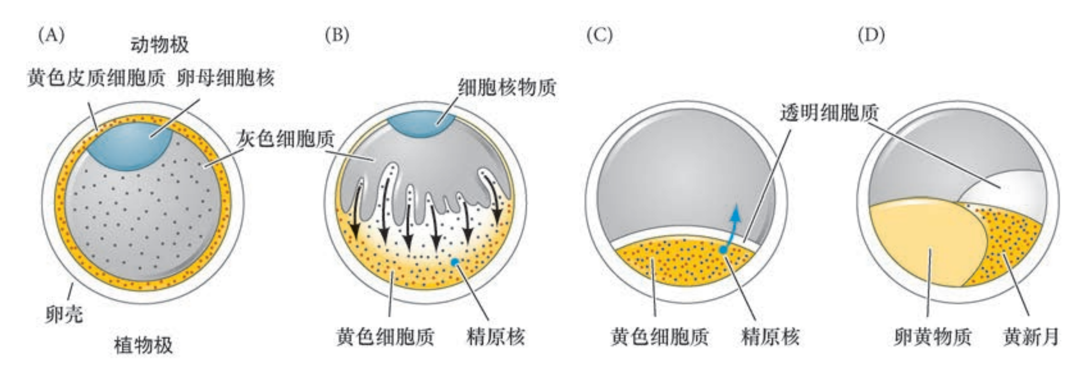


图 10.17 柄海鞘（*Styela partita*）受精卵中的细胞质重排。（A）受精前，黄色皮质细胞质包围灰色（富含卵黄）的内部细胞质。（B）精子进入卵母细胞的植物半球后，由于卵母细胞核解离而产生的黄色皮质细胞质和透明细胞质向植物极精子的方向收缩。（C）当雄原核向动物极新形成的雌原核移动时，黄色和透明细胞质也随之移动。（D）黄色细胞质最终的区域标志尾部肌肉形成的位置（参考 Conklin 1905）。

Edwin Conklin（1905）利用颜色可以区分不同细胞质区域的优势追踪了胚胎的每个细胞在幼体中的命运（见网络话题 1.3）。他发现，接收透明细胞质的细胞变成外胚层；那些含有黄色细胞质的细胞产生中胚层细胞；那些整合了瓦灰色包含体的细胞变成内胚层；而那些浅灰色的细胞变成神经管和脊索。这些细胞质区域排列在对称面的两侧，它们被第一次卵裂的卵裂沟平分到左半胚胎和右半胚胎。第二次卵裂使预定中胚层位于两个后部细胞，而预定神经外胚层和脊索中胚层（脊索）将从两个前部细胞形成（**图 10.18**）。第三次卵裂进一步将这些细胞质区域分隔，使那些形成中胚层的细胞被局限在植物极的两个后部卵裂球，而脊索中胚层细胞被限制在两个植物极前部的细胞。

10.3.3 被囊动物卵裂球的自主性和条件性特化

被囊动物卵裂球的自主性特化是胚胎学领域的最早发现之一（Chabry 1888）。Cohen 和 Berrill（1936）证实了 Chabry 和 Conklin 的结果。通过计数脊索和肌肉细胞的数目，他们证明了源自最早两个卵裂球中

[5] 这一描述应该使你回想起第 9 章中有关果蝇卵后部细胞质的讨论。的确，一些 mRNA 通过其 3′ 非翻译区定位于 CAB。CAB 富含一些小泡，其中的一些 mRNA 被分配到生殖细胞，而另一些帮助构建前 - 后轴（Makabe and Nishida 2012）。

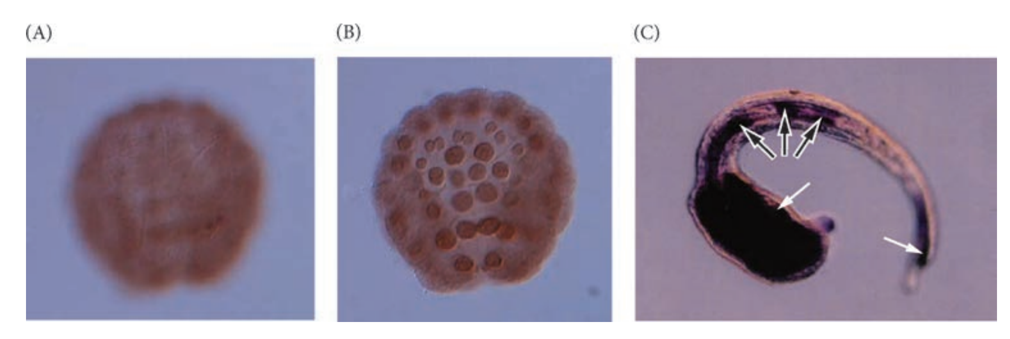


图 10.18 利用抗体染色显示 β- 联蛋白参与内胚层的形成。(A) 在一个 110 细胞期的玻璃海鞘 (*Ciona*) 胚胎中，动物极细胞核中没有 β- 联蛋白。(B) 相形之下，β- 联蛋白在植物极内胚层前体的细胞核中清晰可见。(C) 当 β- 联蛋白在脊索前体细胞中表达时，这些细胞将变成内胚层，并表达内胚层标记物，如碱性磷酸酶。白色箭指示正常的内胚层；黑色箭显示脊索细胞表达内胚层特异的酶（来自 Imai et al. 2000，由 H. Nishida 和 N. Satoh 提供）。

的一个（或者左侧，或者右侧的卵裂球）的幼体的细胞数目只有预期的一半[6]。如果 8 细胞期胚胎被分成 4 对（左侧和右侧是对等的），就可以观察到自主性和条件性特化方式 (Reverberi and Minganti 1946)。自主性特化见于肠内胚层、肌肉中胚层和皮肤外胚层（见 Lemaire 2009)。条件性特化（通过诱导）见于脑、脊索、心脏及间充质细胞的形成。的确，被囊动物的大部分细胞谱系都涉及一些诱导作用。

肌质的自主性特化：黄新月和 Macho-1 我们从 Conklin 和其他人的细胞谱系研究中知道，在 8 细胞胚胎中只有一对卵裂球（植物极后部；B4.1）能产生尾部肌肉组织 (Whittaker 1982)。这些细胞含有黄新月细胞质。像在第 2 章提到的那样，在被囊动物的 8 细胞胚胎中，当黄新月细胞质从 B4.1（形成肌肉）卵裂球被移植到 b4.2 或者 a4.2（形成外胚层）卵裂球时，形成外胚层的卵裂球就会产生肌细胞及它们的正常外胚层后代细胞。Nishida 和 Sawada (2001) 显示，这一肌细胞形成决定物是一个 mRNA，编码一个被他们命名为 Macho-1 的转录因子。他们将 *macho-1* 的 mRNA 与细胞形成肌肉的能力关联起来：当他们去除 *macho-1* 时，细胞不能形成肌细胞；如果将这个 mRNA 添加到非肌肉的祖细胞，这些细胞就能够形成肌细胞。

Macho-1 蛋白是一个转录因子，激活一些中胚层基因，包括肌肉肌动蛋白、肌球蛋白、*tbx6* 和 *snail* (Sawada et al. 2005；Yagi et al. 2004)。在这些基因的产物中，只有 Tbx6 在异位表达时能够诱导肌肉分化（像 Macho-1 那样）。因此，Macho-1 似乎直接激活 *tbx6* 基因，并且 Tbx6 蛋白在 Macho-1 的下游激活肌细胞的发育 (Yagi et al. 2005；Kugler et al. 2010)。所以，*macho-1* 信使表达在正确的时间和位置，是长期以来人们在黄新月中所寻找的肌细胞决定物。这些实验提示，Macho-1 在某些被囊动物中对促进肌细胞的分化既是必需的也是充分的。

Macho-1 和 Tbx6 似乎也激活（可能以前馈方式）肌细胞特异性基因 *snail*。Snail 蛋白抑制 *Brachyury* 在肌细胞中的表达，以阻止肌前体细胞变成脊索细胞[7]。因此，Macho-1 应该是在被囊动物胚胎的黄新月细胞质中形成肌细胞的一个关键转录因子。Macho-1 激活一个转录因子级联反应，促进肌细胞分化，同时抑制脊索特化。

网络话题 10.4 **寻找肌细胞发生因子** 在所有已知的卵中，黄新月细胞质是最诱人的区域之一。在分子生物学技术能够鉴别出单个 RNA 之前，一些漂亮的实验已经详细阐明了这一细胞质区域具有肌细胞发生决定物的特性。

[6] Chabry 和 Driesch 似乎都得到了其他人期望的结果（见 Fisher 1991）。Driesch 把胚胎看成是一台机器，他预期的自主性特化却显示了条件性特化（调节性发育）。Chabry 是一个社会主义者，相信人人平等，他期待发现条件性特化但却看到了自主性特化（嵌合性发育）。最近对基因调控网络的研究已经开始提供了这种调节的分子基础 (Peter et al. 2012)。

[7] 我们也可以看到 *Brachyury* 在脊椎动物脊索形成过程中的重要性。的确，脊索是联结被囊动物和脊椎动物的“索”，而 *Brachyury* 是特化脊索的基因 (Satoh et al. 2012)。我们还可以看到，*Tbx6*（与 *Brachyury* 的关系很近）对脊椎动物肌肉组织的形成具有重要作用。

内胚层的自主性特化：β- 联蛋白 预定内胚层来源于植物极的 A4.1 和 B4.1 卵裂球。这些细胞的特化与 β- 联蛋白的定位相关，这在前面关于海胆内胚层特化的内容中已经予以讨论。在被囊动物胚胎中抑制 β- 联蛋白导致内胚层缺失，并被外胚层所取代（图 10.18；Imai et al. 2000）。相反，增加 β- 联蛋白的合成则导致内胚层增加，而外胚层减少（与海胆中的情况完全一样）。β- 联蛋白转录调节因子似乎通过激活转录因子 Lhx3 的合成而发挥功能。抑制 *lhx3* 信使能阻止内胚层的分化（Satou et al. 2001）。

网络话题 10.5 **被囊动物胚胎中幼体体轴的特化** 不像许多其他胚胎，所有被囊动物胚胎的体轴都受第一次卵裂前合子的细胞质所决定。

内胚层对间充质和脊索的条件性特化 尽管大部分被囊动物的肌细胞受黄新月细胞质影响以自主的方式所特化，但是最后部的肌细胞是通过 A4.1 和 b4.2 卵裂球的后代细胞之间的相互作用被条件性地特化（Nishida 1987，1992a，b）。而且，脊索、脑、心脏及间充质也是通过诱导性相互作用而形成的。实际上，脊索和间充质似乎被内胚层细胞分泌的一些成纤维细胞生长因子所诱导（Nakatani et al. 1996；Kim et al. 2000；Imai et al. 2002）。这些成纤维细胞生长因子蛋白诱导 *Brachyury* 基因，而 Brachyury 能结合一些特化脊索发育的顺式调控元件（图 10.19；Davidson and Christiaen 2006）。

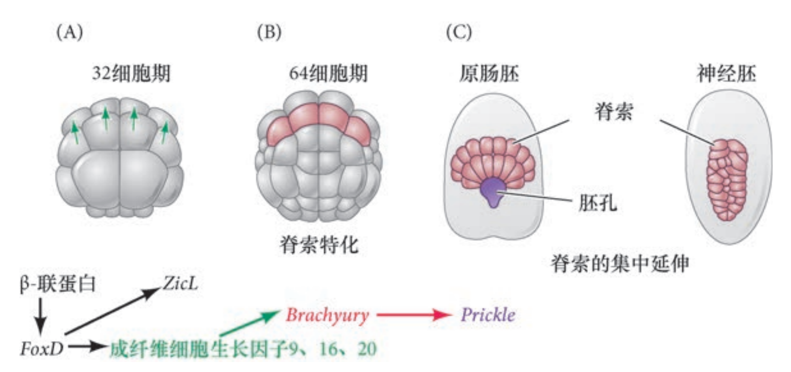


图 10.19 早期被囊动物胚胎中脊索发育的简化版基因调控网路。（A，B）自植物极观察的 32 细胞期和 64 细胞期玻璃海鞘胚胎。（A）β- 联蛋白的积累导致 *FoxD* 基因的表达。FoxD 蛋白帮助内胚层细胞的特化和分泌成纤维细胞生长因子蛋白。（B）成纤维细胞生长因子诱导相邻细胞表达 *Brachyury*，这些细胞将成为脊索。（C）背部观。Brachyury 激活一些细胞活动的调节物，如调节细胞极性的 Prickle，使原肠胚和神经胚中的脊索进行集中延伸运动（参考 Davidson and Christiaen 2006）。

拓展性问题

被囊动物的神经系统在幼体阶段出现，但在变态过程中退化。考虑一下脊椎动物的神经管，比如鱼类，以及它如何分区形成前脑、中脑、后脑和脊髓（见第 13 章）。那么，如何能够确定被囊动物的神经管和脊椎动物的神经管之间的相似性？它们是同源的还是同功的？（见第 26 章）。

有意思的是，那些在早期被 Brachyury 转录因子激活的基因具有多个 Brachyury 结合位点，并且所有这些位点都需要被 Brachyury 结合以达到最大的效果。那些在晚期被 Brachyury 激活的基因仅有一个结合位点，而且 Brachyury 与这一位点的结合并不强。在更晚期被激活的脊索基因可能是间接的作用。在最后一种情形中，Brachyury 激活另一个转录因子，这个因子再激活那些更晚表达的基因（Katikala et al. 2013；José-Edwards et al. 2015）。以这种方式，胚胎就可以在脊索中精细地调节基因表达的时序。

在植物极后部的细胞质中，Macho-1 使那些将要成为间充质的后部细胞以不同于那些将要形成神经结构的细胞对成纤维细胞生长因子信号产生应答（图 10.20；Kobayashi et al. 2003）。通过激活 *snail* 基因（它进而抑制 *Brachyury* 基因），Macho-1 在间充质细胞前体中抑制脊索的诱导。因此，Macho-1 不仅是一个激活肌细胞的决定物，它也是使细胞对成纤维细胞生长因子信号产生不同应答的因子。对成纤维细胞生长因子产生应答的那些细胞不会变成肌细胞，因为成纤维细胞生长因子激活一个阻止肌细胞形成的信号级联反应（这些因子的作用在脊椎动物中也是保守的）。如图 10.20 所示，Macho-1 改变了细胞对内胚层成纤维细胞生长因子信号的应答，使前部细胞形成脊索，而使后部细胞变成间充质。

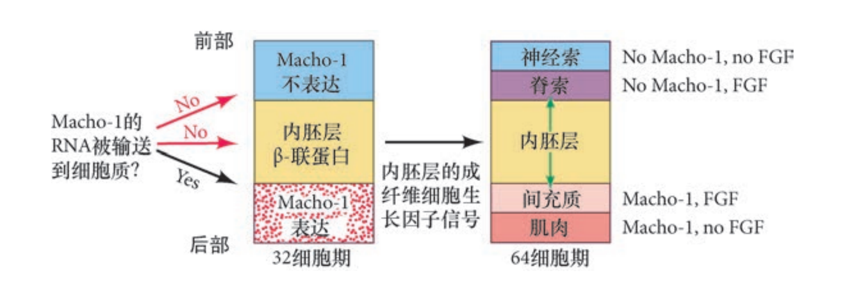
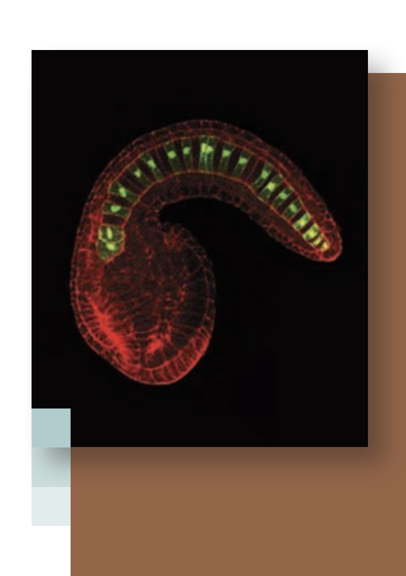


图 10.20　被囊动物胚胎边缘细胞特化的两步过程。第一步包括细胞获得（或者没有获得）Macho-1 转录因子。第二部包括接收（或者没有接收）来自内胚层的成纤维细胞生长因子 (FGF) 信号（参考 Kobayashi et al. 2003）。

网络话题 10.6　**被囊动物的原肠胚形成**　被囊动物的胚胎遵循后口动物原肠胚形成的图式，但与海胆有很大的区别。

下一步的研究

当 Elie Metchnikoff 在 1882 年发现了海胆幼体的先天免疫系统后，可以说海胆胚胎学促进了免疫学领域的诞生。今天，越来越多的研究正在关注幼体原始免疫系统的形成和介导幼体在环境中生长的机制。不仅如此，在进化领域，被囊动物的脊索代表了一个新的细胞类型。新的细胞类型如何出现？这是一个正在被深度研究的问题，我们将在第 26 章继续讨论。



开篇图的思考

这个被囊动物胚胎有一些发荧光的细胞，因为它们所表达的 Brachyury 蛋白的靶基因被荧光标记，这样可以确定它们是将要变成脊索的细胞（见 306 页）。在被囊动物和脊椎动物的胚胎中，脊索是原始的脊柱，它诱导其上部的外胚层细胞形成神经管。因此，被囊动物是一个无脊椎（它没有脊髓）的脊索动物（它的确有一个脊索）。当 Alexander Kowalevsky 在 1866 年发现了这一现象时，查理 • 达尔文（Charles Darwin）感到异常兴奋，意识到被囊动物是无脊椎动物门和脊椎动物门之间在进化上的联结。今天，我们已经知道 Brachyury 蛋白对被囊动物和脊椎动物的脊索形成都具有重要作用，因此为 Kowalevsky 的发现提供了分子支持（图由 J. H. Imai 和 A. Di Gregorio 提供）。



10 要点总结

海胆和被囊动物的早期发育

1. 在海胆和被囊动物中，胚孔形成肛门，而口在别处形成。这种后口动物图式的原肠胚形成也是脊索动物（包括脊椎动物）的特征。
2. 海胆的卵裂是辐射完全卵裂。然而，在第四次卵裂时，植物极细胞层分裂成为大分裂球和小分裂球。动物极分裂形成中分裂球。
3. 海胆的细胞命运由自主性和条件性两种方式特化。小分裂球受自主性特化，并且变成一个主要信号中心，参与其他细胞谱系的条件性特化。母体 β- 联蛋白在小分裂球的自主性特化中具有重要作用。

4. 差异性的细胞黏附对调节海胆的原肠胚形成有重要作用。小分裂球首先从植物板脱离并向囊胚腔运动。它们成为成骨间充质，进而形成长腕幼体的骨棒。植物板内陷，形成内胚层的原肠腔，顶端是非成骨间充质细胞。集中延伸运动使原肠腔延伸，并被非成骨间充质引导至未来的口部区域。
5. 大体积的小分裂球变成幼体的骨骼；小体积的小分裂球参与体腔和成体生殖细胞的形成。
6. 小分裂球通过近分泌和旁分泌信号途径调节相邻细胞的命运。它们能将动物极细胞转变成内胚层。
7. 基因调控网络通过一些逻辑回路将输入信号整合成条理分明的细胞输出，进而发挥功能。小分裂球整合母体组分，使 β- 联蛋白激活 *Pmar1* 基因，其产物又抑制 *HesC* 基因。*HesC* 基因的产物抑制成骨基因。因此，通过区域性地抑制阻遏物，位于最植物极处的细胞命运被定型，产生骨骼，这称为双负阀。
8. 在早期原肠胚形成过程中，Nodal 蛋白决定海胆长腕幼体的口面 - 反口面轴向。在原肠胚形成后期和幼体早期，它特化幼体的右半部分。
9. 成骨间充质的内移伴随着上皮到间充质转换。在这一转换过程中，这些细胞失去钙黏着蛋白，获得与囊胚腔内基质的亲和力并与之黏附。
10. 细胞形状的改变、细胞增殖和集中延伸运动协调原肠腔的内陷和延伸。在内陷的最后阶段，原肠腔的最顶端由非成骨间充质细胞主动拉向囊胚腔顶部。
11. 成体海胆原基，称为成虫原基，在骨形态发生蛋白的影响下形成于左侧的体腔囊。
12. 被囊动物胚胎进行两侧完全卵裂。
13. 黄色细胞质含有肌细胞形成的决定物，以自主的方式发挥作用。心脏和神经系统通过分裂球之间信号的相互作用条件性地形成。
14. Macho-1 是被囊动物的肌细胞决定因子（一个足以激活肌肉特异性基因的转录因子）。脊索和间充质通过旁分泌因子（如成纤维细胞生长因子）条件性地形成。
15. 成纤维细胞生长因子在相邻细胞中诱导 *Brachyury* 的表达，使这些细胞变成脊索。
16. 在被囊动物，Nodal 特化左 - 右轴的形成，它也仅在躯体的左侧表达（在蜗牛和脊椎动物中也是如此）。

拓展阅读

Lemaire, P. 2009. Unfolding a chordate developmental program, one cell at a time. *Dev. Biol.* 332: 48–60.

Lyons, D. C., M. L. Martik, L. R. Saunders and D. R. McClay. 2014. Specification to biomineralization: Following a single cell type as it constructs a skeleton. *Integr. Comp. Biol.* 54: 723–733.

McClay, D. R. 2016. Sea urchin morphogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 15–30.

Nishida, H. and K. Sawada. 2001. *Macho-1* encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis. *Nature* 409: 724–729.

Peter, I. S. and E. H. Davidson. 2016. Implications of developmental gene regulatory networks inside and outside developmental biology. *Curr. Top. Dev. Biol.* 117: 237–252.

Revilla-i-Domingo, R., P. Oliveri and E. H. Davidson. 2010. A missing link in the sea urchin embryo gene regulatory network: *hesC* and the double-negative specification of micromeres. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 12383–12388.

Saunders, L. R. and D. R. McClay. 2014. Sub-circuits of a gene regulatory network control a developmental epithelial-mesenchymal transition. *Development* 141: 1503–1513.

Wu, S. Y., M. Ferkowicz and D. R. McClay. 2010. Ingression of primary mesenchyme cells of the sea urchin embryo: A precisely timed epithelial-mesenchymal transition. *Birth Def. Res. C Embryol. Today* 81: 241–252.

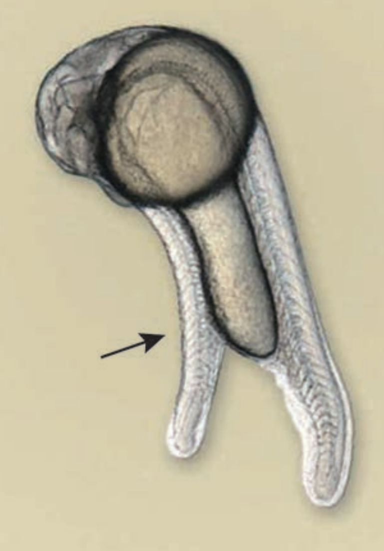
浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 11 章

两栖类和鱼类

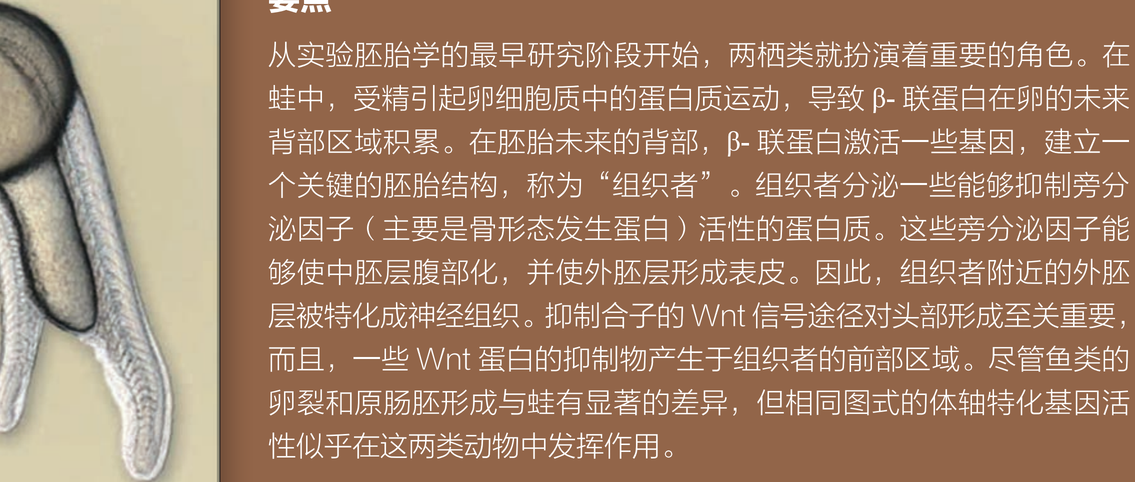
这个斑马鱼胚胎具有两个体轴。这种情况是如何发生的、对脊椎动物的发育有何启示？



尽管成体的形态存在巨大差异，每个脊椎动物类群的早期发育却是非常相似。鱼类和两栖类是两类最容易研究的脊椎动物。这两个类群的动物都向体外产出几百颗卵并同时在体外受精。鱼类和两栖类动物都是**无羊膜**（**anamniotic**）脊椎动物（图 **11.1**），这意味着它们不能形成可以使胚胎在干燥陆地进行发育的羊膜。然而，发育中的两栖类和鱼类利用许多与其他脊椎动物（包括人类）相似的过程和基因来形成体轴和器官。

11.1 两栖类的早期发育

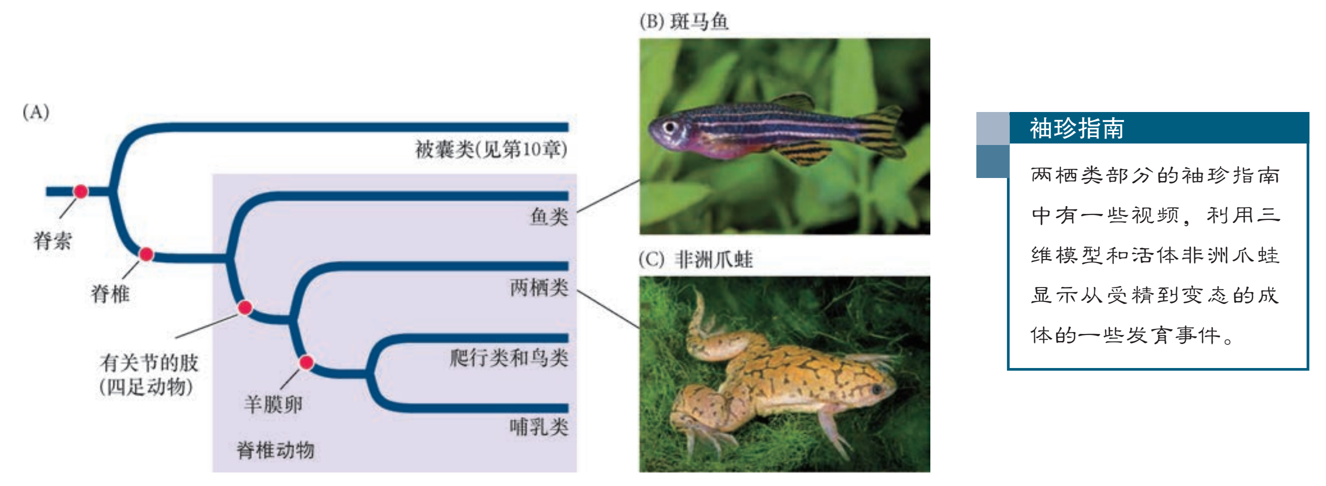
两栖类胚胎在实验胚胎学领域曾经一度占据主导地位。由于细胞较大及发育速度快，蝾螈和蛙胚胎非常适于胚胎移植实验。然而，在发育遗传学的早期研究阶段，两栖类的胚胎并没有受到青睐，部分原因是这些动物的性成熟周期较长，以及它们的染色体通常有几个拷贝，





要点

从实验胚胎学的最早研究阶段开始，两栖类就扮演着重要的角色。在蛙中，受精引起卵细胞质中的蛋白质运动，导致 β- 联蛋白在卵的未来背部区域积累。在胚胎未来的背部，β- 联蛋白激活一些基因，建立一个关键的胚胎结构，称为“组织者”。组织者分泌一些能够抑制旁分泌因子（主要是骨形态发生蛋白）活性的蛋白质。这些旁分泌因子能够使中胚层腹部化，并使外胚层形成表皮。因此，组织者附近的外胚层被特化成神经组织。抑制合子的 Wnt 信号途径对头部形成至关重要，而且，一些 Wnt 蛋白的抑制物产生于组织者的前部区域。尽管鱼类的卵裂和原肠胚形成与蛙有显著的差异，但相同图式的体轴特化基因活性似乎在这两类动物中发挥作用。



袖珍指南

两栖类部分的袖珍指南中有一些视频，利用三维模型和活体非洲爪蛙显示从受精到变态的成体的一些发育事件。

图 11.1 （A）脊索动物的系统进化树显示脊椎动物类群之间的关系。鱼类和两栖类的胚胎发育必须在潮湿的环境中进行。带壳的羊膜卵的进化可使爬行类及其后代在干燥的陆地上发育，这将在第 12 章讨论。（B）斑马鱼（*Danio rerio*）已经在发育研究中成为一种普遍应用的模式动物。它是最早被用在类似于果蝇基因突变研究的脊椎动物。（C）由于非洲爪蛙（*Xenopus laevis*）没有特定的繁殖期，可以全年产卵，因此是研究最深入的两栖类之一（B 图由 D. McIntyre 提供；C 图为 Michael Redmer/Visuals Unlimited 版权所有）。

难于实现基因突变。但随着分子技术的出现，如原位杂交、反义寡核苷酸、染色质免疫沉淀、显性失活蛋白等，研究人员又转回来研究两栖类动物的胚胎，并且能够将他们的分子分析结果与早期实验的一些发现整合在一起。这些结果令人瞩目，为我们提供了脊椎动物躯体图式和构造的新认知。Jean Rostand 在 1960 这样说过：“理论来而又去，只有青蛙依旧”。

观察发育 11.1 一段 2 min 的视频提供蛙从受精到幼体阶段发育的快速概览。

11.1.1 受精、皮质旋转和卵裂

大多数蛙进行体外受精，当雌蛙产卵时，雄蛙为卵受精。即使在受精前，蛙卵已经具有极性，因为密度高的卵黄处在植物极（底部），而卵的动物极部分（上半部）基本不含卵黄。如我们将要看到的那样，一些蛋白质和 mRNA 在未受精的卵中已呈现出特定的区域性分布。

两栖类卵的受精可以发生在动物半球的任何位置。精子入卵的位点对决定背 - 腹极性有重要的作用。精子的入卵点标志胚胎的腹侧，而相对于精子入卵点 180° 的位置标志胚胎的背部。精子的中心粒随精子细胞核进入卵，在植物极细胞质中将卵的微管组织成平行的轨道，并将外侧的皮质细胞质与内部富含卵黄的细胞质分开（图 11.2A，B）。这些微管轨道使皮质细胞质相对于内部细胞质旋转。的确，在紧接旋转开始之前就可以最先观察到这些平行排列的微管，但它们在旋转结束时消失（Elinson and Rowning 1988；Houliston and Elinson 1991）。

在合子中，皮质细胞质相对于内部细胞质大约旋转 30° 的角度（图 11.2C）。在有些情况下，这显示出一个灰色的内部细胞质区域，正好与精子的入卵点相对（图 11.2D；Roux 1887；Ancel and Vintenberger 1948）。这一区域，称为**灰色新月**（**gray crescent**），是原肠胚形成的起始位置。即便在没有灰色新月的非洲爪蛙卵中，也发生皮质旋转，而且可以观察到细胞质的运动（Manes and Elinson 1980；Vincent et al. 1986）。原肠胚形成起始于精子入卵点的相对位置，这一区域将成为胚胎的背部。在受精时，精子的中心粒所组织的微管排列为启动这些运动发挥了很大的作用。因此，幼体背 - 腹轴的形成可以追溯至精子入卵的位点。

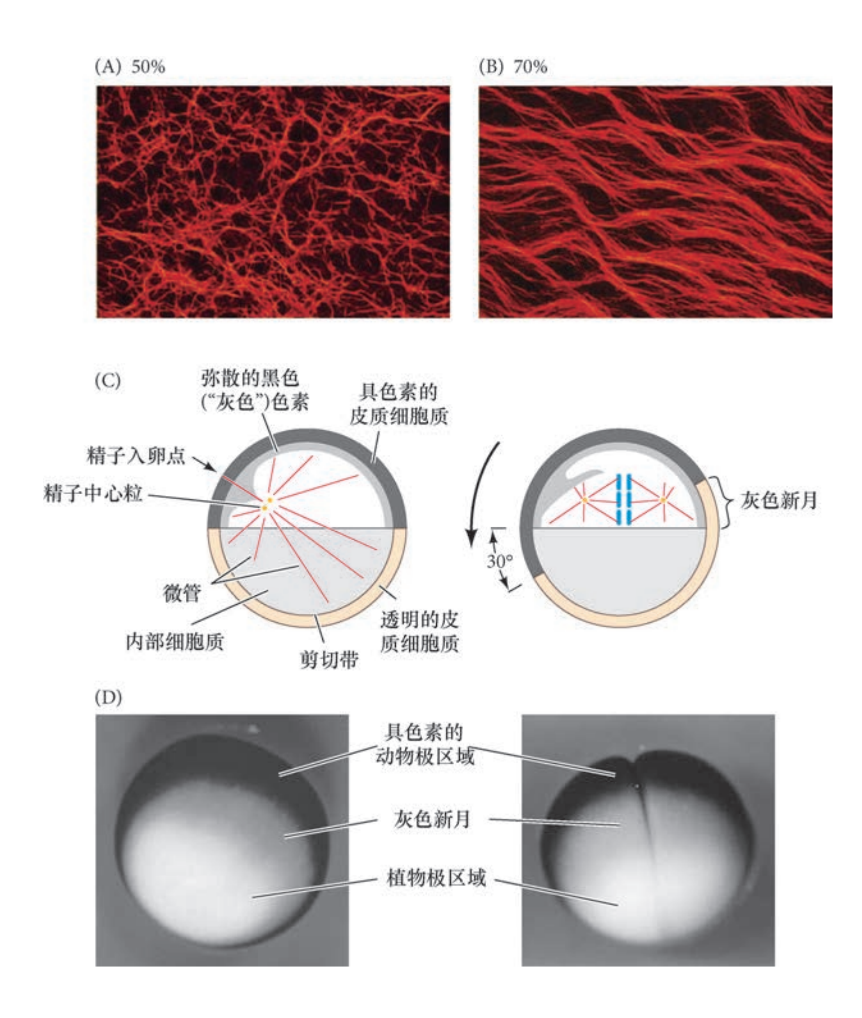


图 11.2　蛙卵中细胞质的重组和皮质旋转产生灰色新月。(A，B) 在卵的植物半球，沿未来背 - 腹轴形成微管的平行排列（这里用荧光标记的微管蛋白抗体染色显示）。(A) 微管开始出现在第一个细胞周期完成 50% 时，但没有极性。(B) 在第一个细胞周期完成 70% 时，微管的平行排列是植物极剪切带的典型特征。这时皮质开始旋转。在旋转结束时，微管解聚。(C) 皮质旋转的横截面示意图。左侧显示卵在第一个细胞周期中途沿动 - 植物极轴呈放射状对称。精子已经进入了卵的一侧，并向内移动。右侧显示第一次卵裂完成 80% 时皮质细胞质已经相对于内部细胞质旋转了 30°的角度。原肠胚形成将从灰色新月开始，这一区域与精子的入卵点相对。在这一区域发生了最大程度的细胞质置换。(D) 豹蛙 (*Rana pipiens*) 的灰色新月。紧随皮质旋转之后（左），浅灰色的色素沉着呈现在深色的皮质细胞质下部。第一次卵裂沟（右图）将灰色新月区域一分为二（A 图和 B 图来自 Cha and Gard 1999，由作者提供；C 图参考 Gerhart et al. 1989；D 图由 R. P. Elinson 提供）。

观察发育 11.2　观察非洲爪蛙第一次卵裂时微管引导的皮质旋转。

11.1.1.1　不均等辐射完全卵裂

大多数蛙和蝾螈的胚胎是辐射对称的完全卵裂，像棘皮动物的卵裂一样。然而，两栖类的卵比棘皮动物的卵要大得多，并且含有更多的卵黄。这些卵黄在植物半球富集，对卵裂是一个阻碍。因此，第一次卵裂从动物极开始，并逐渐向植物极区域延伸（**图 11.3A**）。在那些具有灰色新月的物种中（尤其是蝾螈和 *Rana* 属的蛙类），第一次卵裂通常将灰色新月均分成两部分（见图 11.2D）。

在第一次卵裂沟还在分割植物半球富含卵黄的细胞质时，第二次卵裂就已经从动物极开始。这一次的卵裂面与第一次卵裂面垂直，而且也是经向分裂。第三次卵裂是赤道分裂。然而，由于植物极富含卵黄，第三次卵裂沟并不是在赤道，而是偏向动物极 (Valles et al. 2002)，将两栖类胚胎分成四个小的动物极卵裂球（小分裂球）和四个大的植物极卵裂球（大分裂球）。尽管它们大小不等，但卵裂球继续以相等的速度分裂，直到第 12 个分裂周期（植物极分裂稍有延迟）。当卵裂继续进行时，动物极区域堆积了大量的小细胞，而植物极具有数量较少、充满卵黄的大分裂球。一个具有 16 ～ 64 个细胞的两栖类胚胎常被称为**桑椹胚** (**morula**；复数是 morulae；拉丁语意为“桑椹”，与这时的胚胎在形状上大致相似)。在 128 细胞期，囊胚腔已经很明显，这时的胚胎变成一个囊胚（**图 11.3B**）。

有大量的细胞黏附分子将分裂中的卵裂球维持在一起。一个最重要的分子是表皮钙黏着蛋白 (EP-cadherin)。编码这一蛋白质的 mRNA 来源于卵母细胞的细胞质。如果用反义寡核苷酸破坏这个 mRNA，使它不能合成表皮钙黏着蛋白，卵裂球之间的黏附便急剧下降，导致囊胚腔消失 (Heasman et al. 1994a，

b）。膜黏附可能有进一步的作用；细胞分裂的协调有可能受膜收缩波的介导（Chang and Ferrell 2013）。

尽管两栖类的发育在物种之间有区别（见 Hurtado and De Robertis 2007），但一般是动物半球的细胞形成外胚层、植物极的细胞形成内胚层，而位于囊胚腔之下的细胞变成中胚层（图 11.3C）。与精子入卵点相对的细胞将变成神经外胚层、脊索中胚层和咽（头）内胚层（Keller 1975，1976；Landstrom and Løvtrup 1979）。

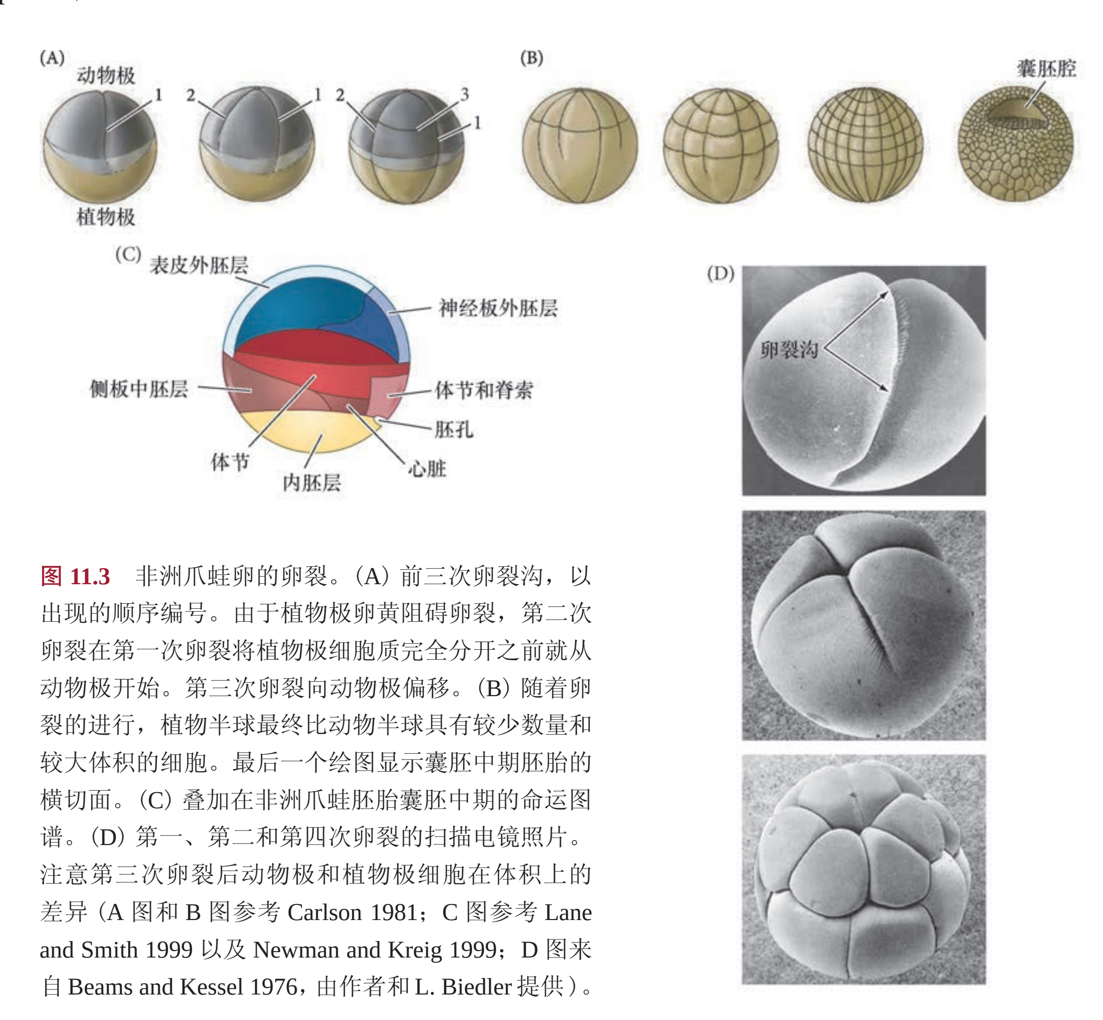


图 11.3 非洲爪蛙卵的卵裂。（A）前三次卵裂沟，以出现的顺序编号。由于植物极卵黄阻碍卵裂，第二次卵裂在第一次卵裂将植物极细胞质完全分开之前就从动物极开始。第三次卵裂向动物极偏移。（B）随着卵裂的进行，植物半球最终比动物半球具有较少数量和较大体积的细胞。最后一个绘图显示囊胚中期胚胎的横切面。（C）叠加在非洲爪蛙胚胎囊胚中期的命运图谱。（D）第一、第二和第四次卵裂的扫描电镜照片。注意第三次卵裂后动物极和植物极细胞在体积上的差异（A 图和 B 图参考 Carlson 1981；C 图参考 Lane and Smith 1999 以及 Newman and Kreig 1999；D 图来自 Beams and Kessel 1976，由作者和 L. Biedler 提供）。

两栖类的囊胚腔具有两个主要功能。第一，它能够改变形状，使原肠胚形成过程中细胞能够进行迁移；第二，它阻止其下部的细胞过早地与上部的细胞发生相互作用。当 Nieuwkoop（1973）从蝾螈胚胎动物半球的囊胚腔顶部一个常被称为**动物帽**（**animal cap**）的区域取出一些细胞，然后将它们与来自囊胚腔底部富含卵黄的植物极细胞放在一起时，动物帽细胞分化成中胚层组织而不是外胚层。因此，囊胚腔阻止植物极细胞与动物极细胞提前接触，使动物帽细胞维持未分化的状态。

11.1.1.2 中囊胚期转换：准备进行原肠胚形成

原肠胚形成的一个重要前提条件是合子基因组（也就是胚胎每个细胞核中的基因）的激活。在非洲爪蛙中，似乎只有少数几个基因在早期卵裂过程中被转录。对于大部分核基因来说，直到第 12 个细胞周期的后期才被激活（Newport and Kirschner 1982a，b；Yang et al. 2002）。在这一时间点，胚胎进行**中囊胚期转换**（**mid-blastula transition**，**MBT**），因为不同的基因开始在不同的细胞中转录，细胞周期出现了间期，卵裂球也获得了运动能力。据认为，卵中的一些因子可能被新产生的染色质所吸收，因为（像在果蝇中一样）这一转换的时间能通过变换细胞中染色质和细胞质的比例而被实验性地改变（Newport and

Kirschner 1982a，b）。

启动中囊胚期转换的一些事件涉及染色质修饰。首先，有些启动子会被脱甲基化，使这些基因得以转录。在囊胚晚期，一些在中囊胚期转换时被激活的基因的启动子上出现甲基化的丢失。而在中囊胚期转换时不被激活的那些基因的启动子上则没有这种脱甲基化的现象，在中囊胚期转换时被激活的基因的编码区也没有这一现象。在中囊胚期转换时，位于许多基因的 5′ 端的组蛋白 H3 上第 4 位赖氨酸（产生一个与活跃转录相关的三甲基化赖氨酸）发生甲基化。因此，一些启动子及其联结的核小体的修饰在中囊胚期转换时对调节基因表达的时间似乎起关键作用（Stancheva et al. 2002；Akkers et al. 2009；Hontelez et al. 2015）。

据认为，一旦启动子区域的染色质被重塑，各种转录因子（如 VegT 蛋白，由定位的母体 mRNA 在植物极细胞质产生）结合一些启动子并起始新的转录。例如，植物极细胞（在 VegT 蛋白的引导下）变成内胚层细胞，并开始分泌一些能诱导其上部细胞变成中胚层的因子（见图 11.10）。

11.1.2　两栖类的原肠胚形成

对两栖类原肠胚形成的研究既是实验胚胎学中最悠久也是最新的研究领域（见 Beetschen 2001；Braukmann and Gilbert 2005）。虽然从 19 世纪 70 年代以来两栖类的原肠胚形成已经被广泛地研究，一些新的活体成像技术的出现使我们对这些细胞运动的复杂性有了新的认识（Papan et al. 2007；Moosmann et al. 2013）。此外，我们关于原肠胚形成和体轴特化机制的大部分理论在过去的 20 年内已经被重新修正。对这些发育运动的研究也变得越发复杂，因为两栖类的原肠胚形成并不是通过某一种单一的方式而进行，不同的物种以不同的方式来达到相同的目标。近年来，最深入的研究主要集中在非洲爪蛙，因此我们也将着重讨论这一物种中的原肠胚形成机制。

观察发育 11.3　从外部观察非洲爪蛙的原肠胚形成，注意胚孔唇。

11.1.2.1　植物极旋转和瓶状细胞的内陷

两栖类的囊胚与我们在第 8 ~ 10 章讲述的无脊椎动物囊胚都面临着同样的任务，也就是将那些注定成为内胚层器官的区域带到胚胎的内部，用能够形成外胚层的细胞包裹胚胎，并将中胚层细胞置入外胚层和内胚层之间的适当位置。完成这些任务的原肠胚形成细胞运动起始于胚胎的未来背部，正好位于赤道下部的灰色新月区（也就是精子入卵点的相对区域；见图 11.2C）。在此处细胞开始内陷，形成缝隙状的胚孔。这些**瓶状细胞**（**bottle cell**）急剧改变形状。每个细胞的主体部分向胚胎内部移动，同时通过一个细长的颈部与外表面保持接触。与海胆中的情况一样，瓶状细胞将起始原肠腔（原始消化道）的形成[1]。然而，与海胆不同，蛙的原肠胚形成不是从最植物极的区域开始，而是起始于**边缘区**（**marginal zone**）。这一区域环围囊胚的赤道，是动物半球和植物半球的交界处（**图 11.4A，B**）。这个位置的内胚层细胞不像最植物极的细胞那样大和富含卵黄。

但是细胞内卷不是一个被动的事件。在瓶状细胞形成前至少 2 h，内部细胞的重排将囊胚腔背部底板的细胞向动物帽推动。这一**植物极旋转**（**vegetal rotation**）使预定咽内胚层细胞靠近囊胚腔，紧位于内卷中胚层的上方（见图 11.5D）。而后，这些细胞沿囊胚腔顶的基部表面迁移，向胚胎的未来前部运动（**图 11.4C ~ E**；Nieuwkoop and Florschütz 1950；Winklbauer and Schürfeld 1999；Ibrahim and Winklbauer

---

[1] Ray Keller 及其学生显示，瓶状细胞古怪的形状变化是非洲爪蛙启动原肠胚形成所必需的。正是这些细胞的束紧形成了胚孔，使表面下的边缘细胞与表面卵裂球的基部相接触。一旦形成接触，边缘细胞就开始沿这些表面细胞基部的细胞外基质迁移。在内卷运动起始后，瓶状细胞便不再重要。此时瓶状细胞已经完成了它们的工作，将它们去除后不会终止原肠胚形成（Keller 1981；Hardin and Keller 1988）。因此，在非洲爪蛙，细胞向胚胎内运动的主要因素似乎是表面下部细胞的内卷，而不是表面边缘瓶状细胞的内陷。

2001)。边缘细胞的表层被拉向内部，形成原肠腔的内胚层衬里，这只是因为这层细胞与活跃迁移的深层细胞相连接。尽管通过实验的方法将瓶状细胞去除后不影响深层或者表层边缘细胞向胚胎内卷，但去除深层的**内卷边缘区**(**involuting marginal zone**，**IMZ**)细胞则会终止原肠腔的形成。

胚孔唇位置的内卷 瓶状细胞使内卷边缘区与囊胚腔壁接触之后，内卷边缘区细胞内卷进入胚胎。当迁移的边缘细胞到达胚孔唇时，它们转向内部，并沿着动物半球细胞(也就是囊胚腔顶部)的内部表面运动(图 11.4D ~ F)。细胞向胚胎内运动的顺序受植物极旋转所决定，而植物极旋转使预定咽内胚层紧靠动物帽组织的内部(Winklebauer and Damm 2011)。同时，动物极细胞进行外包运动，产生一个细胞流，在背部胚孔处汇聚并变成**背胚孔唇**(**dorsal blastopore lip**)。

组成背胚孔唇并最早进入胚胎的细胞是预定前肠的咽内胚层细胞(图 11.5)。这些细胞在囊胚腔的表面外胚层之下向前部迁移[2]。这些前部内胚层细胞转录 *hhex* 基因，这个基因编码一个对头部和心脏形成

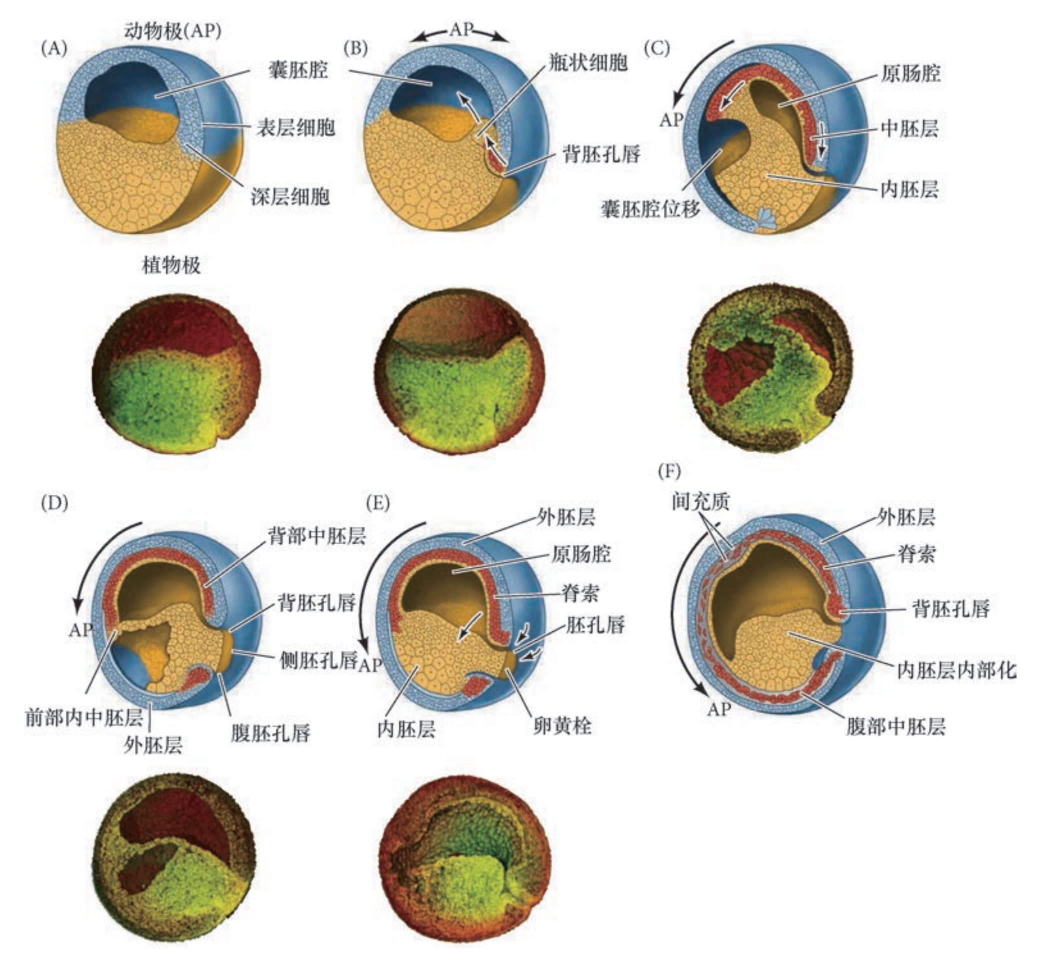


图 11.4 蛙原肠胚形成过程中的细胞运动。绘图显示通过胚胎中部的纵切面，使植物极偏向观察者并稍微偏左。主要的细胞运动由箭指示，表层动物半球细胞被着色以便于跟踪它们的运动。绘图的下面对应的是表面成像显微照片(见 Ewald et al. 2002)。(A，B) 早期原肠胚形成。边缘的瓶状细胞向内移动，形成胚孔的背唇，中胚层前体在囊胚腔顶的下方内卷。AP 标记动物极的位置，它随着原肠胚形成而变化。(C，D) 原肠胚形成中期。原肠腔形成并取代囊胚腔，细胞从胚孔的侧部和腹部迁移进入胚胎。动物半球的细胞向植物极区域迁移，将胚孔移动到靠近植物极的区域。(E，F) 在原肠胚形成即将完成时，囊胚腔消失，胚胎被外胚层包裹，内胚层已经内部化，并且中胚层细胞也位于外胚层和内胚层之间(参考 Keller 1986 绘图；显微照片由 Andrew Ewald 和 Scott Fraser 提供)。

[2] 在这个时期咽部内胚层和头部中胚层无法用实验的方法分开，因此有时它们被合称为头部内中胚层。脊索是背部中胚层的基本单元，但体节的背部部分也被认为具有类似于脊索的特征。X 光相差和离体微断层摄影已经显示出原肠胚形成的一些新的细节，这些细节还需要整合到一些分子模型中(Moosmann et al. 2013)。

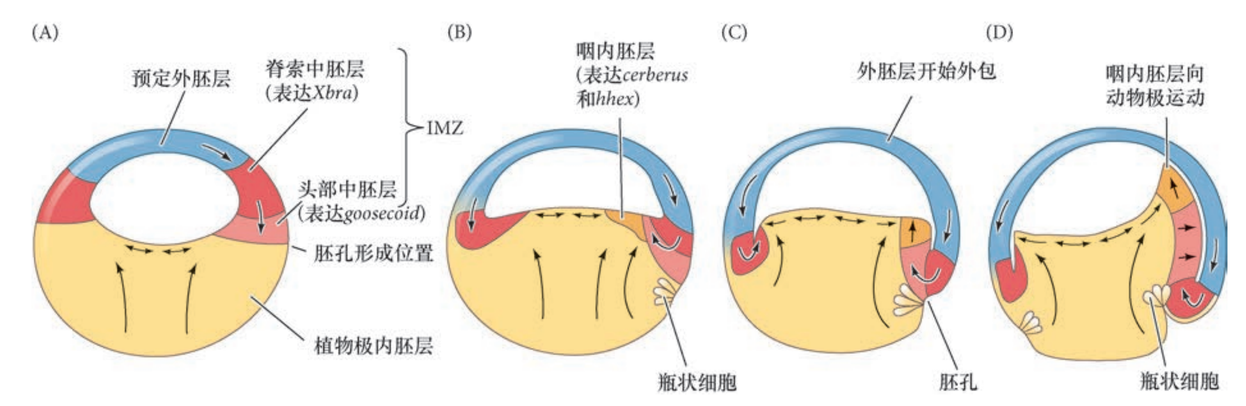


图 11.5　非洲爪蛙原肠胚形成的早期运动。(A) 在原肠胚形成开始时形成内卷边缘区 (IMZ)。粉色代表预定头部中胚层 (表达 *goosecoid*)。脊索中胚层 (表达 *Xbra*) 为红色。(B) 植物极旋转 (箭所示) 将预定咽内胚层 (橙色；受 *hhex* 和 *cerberus* 的表达所特化) 推向囊胚腔。(C，D) 植物极内胚层 (黄色) 的运动将咽内胚层向前推动，使中胚层被动地向胚胎内和动物极方向运动。外胚层 (蓝色) 开始外包 (参考 Winklbauer and Schürfeld 1999)。

至关重要的转录因子 (Rankin et al. 2011)。当这些最早内卷的细胞进入胚胎后，背胚孔唇就开始由内卷进入胚胎变成**索前板** (**prechordal plate**) 的细胞组成。索前板是头部中胚层的前体，这些细胞表达 *goosecoid* 基因，其产物是一个转录因子，激活调控头部形成的许多基因。它通过抑制那些抑制头部形成的基因 (如 *Wnt8*)，间接地激活这些基因。这一现象，即通过抑制阻遏物的方式激活基因，是动物发育的一个主要特征，就像我们在双负阀特化海胆小分裂球时看到的那样。

接下来经过背胚孔唇进行内卷的细胞是**脊索中胚层** (**chordamesoderm**)。这些细胞将形成**脊索** (**notochord**)——一个临时性的中胚层棒状结构，在神经系统的诱导和图式形成中具有重要作用。脊索中胚层表达 *Xbra*(*brachyury*) 基因，其产物 (如前一章所述) 是一个脊索形成的关键转录因子。因此，随着最初的细胞迁移进入胚胎并被一些向下、向内和向上迁移的细胞所替代，组成背胚孔唇的细胞一直在发生变化。

随着新的细胞进入胚胎，囊胚腔被移动到背唇的相对一侧。同时，随着围绕胚孔的瓶状细胞的不断形成和内卷的进行，胚孔唇向两侧及腹侧扩展。不断变宽的胚孔“新月”形成侧唇并最终形成一个腹唇，这是其他中胚层和内胚层前体细胞迁移经过的位置 (图 11.6)。这些细胞包括心脏和肾的前体。随着腹唇的形成，胚孔围绕内胚层细胞形成一个环，围绕着仍然暴露在植物极表面的大体积内胚层细胞。剩余的

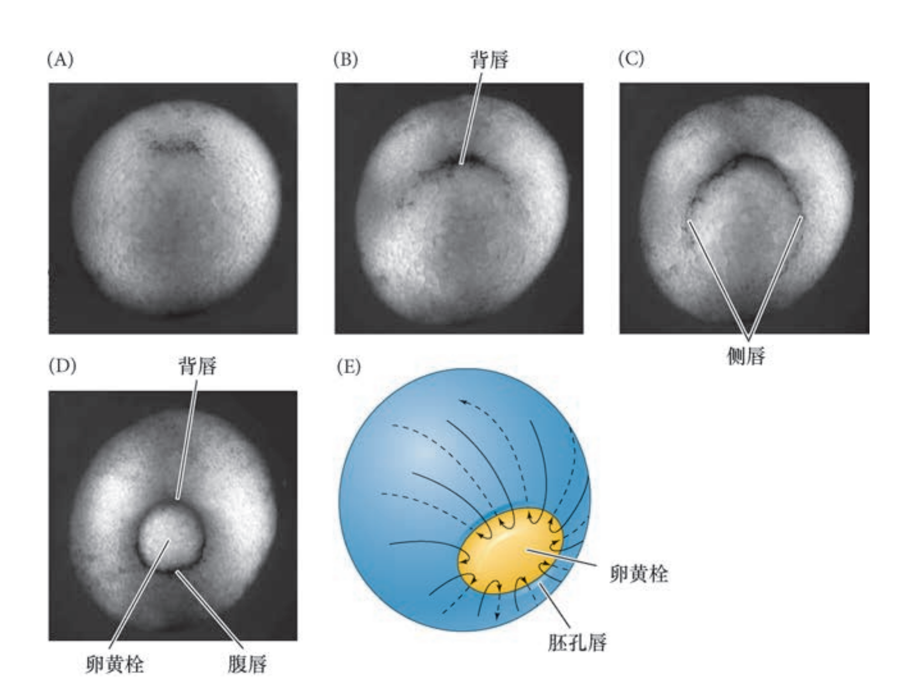


图 11.6　非洲爪蛙外胚层的外包 (自植物极观察)。(A) 位于边缘处的色素细胞显示背胚孔唇的位置。(B，C) 这一区域的内卷在后来扩展形成侧唇。(D) 胚孔最终环绕一个小的卵黄栓，细胞沿每一侧进行内卷。(E) 外部细胞汇聚形成外胚层，而富含卵黄的细胞 (组成内胚层) 被内部化。在它们之间内卷的细胞将变成中胚层。整个事件需要大约 7 h(A ～ D 图由 C. Watters 提供)。

内胚层块称为**卵黄栓**（**yolk plug**），它最终也将被内部化（在肛门的位置）。这时，所有内胚层的前体都已经被带到胚胎内部，外胚层已经包裹胚胎表面，而中胚层被带到它们中间。最先进入胚孔的细胞位于最前部。

观察发育 11.4 Christopher Watters 博士制作的视频，是图 11.6 中照片的出处。

背部中胚层的集中延伸 图 11.7 描述了非洲爪蛙原肠胚形成过程中内卷边缘区细胞的行为（Keller and Schoenwolf 1977；Hardin and Keller 1988）。内卷边缘区最初有几层细胞的厚度。在它们经过胚孔唇进行内卷之前不久，这几层深层的内卷边缘区细胞进行径向嵌插以形成一个薄而宽的细胞层。这种嵌插进而使内卷边缘区向植物极延伸（**图 11.7A**）。同时，通过分裂和变平，表层细胞伸展铺开。当深层细胞到达胚孔时，它们向胚胎内卷并起始第二种类型的嵌插。这种嵌插导致中侧轴方向的集中延伸，将几组中胚层流整合在一起而形成一个狭长的条带（**图 11.7B**）。这个条带的前部向动物帽迁移。因此，中胚层流继续向动物极迁移，而其上的表面细胞（包括瓶状细胞）被动地向动物极运动，由此形成了原肠腔的内胚层顶板（见图 11.4 和图 11.7）。深层细胞的径向和中侧向嵌插似乎参与中胚层向胚胎内的继续运动。

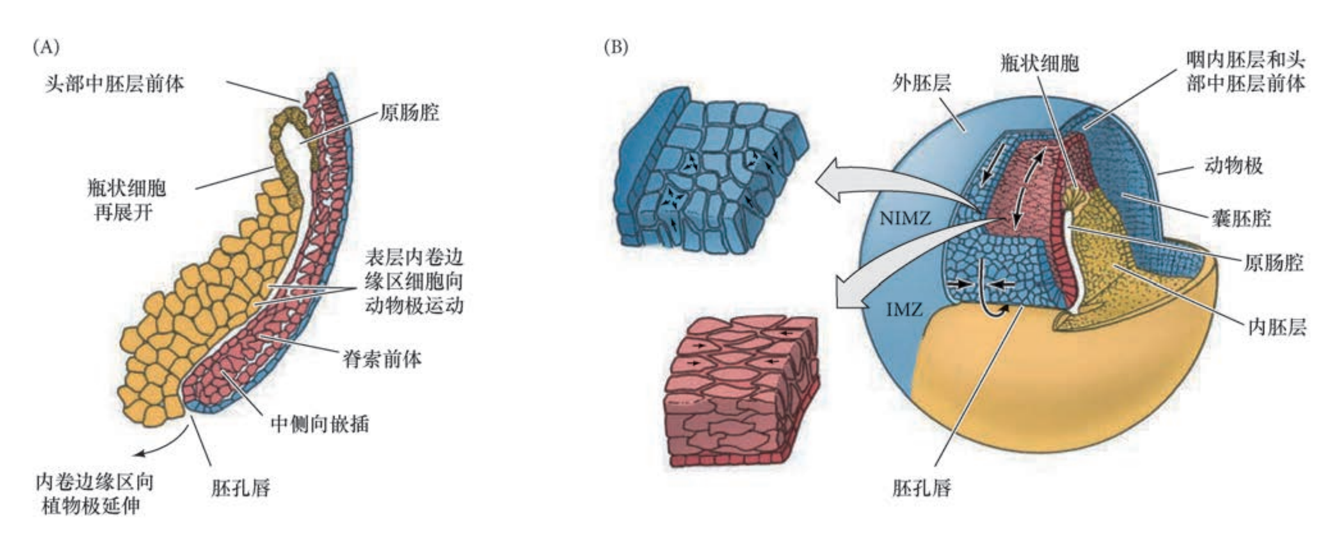


图 11.7 非洲爪蛙继续进行原肠胚形成。(A) 深层边缘细胞变平，原来的表层细胞形成原肠腔壁。(B) 径向嵌插，从背面向下观察背胚孔唇。在非内卷边缘区（NIMZ）及内卷边缘区（IMZ）的上部，深层（中胚层）细胞进行径向嵌插，形成一个扁平细胞薄带。多层细胞的变薄使细胞朝胚孔方向集中延伸（白色箭）。在胚孔唇的正上方，细胞的中侧向嵌插产生压力将内卷边缘区拉过胚孔唇。在内卷经过胚孔唇后，中侧向嵌插继续进行，使中轴中胚层伸长而且变窄（参考 Wilson and Keller 1991 和 Winklbauer and Schürfeld 1999）。

有几种力量似乎能驱动集中延伸运动。第一种是极化的细胞黏聚力，内卷的中胚层细胞形成突出，彼此接触。这些“伸手”不是随机的，而是朝向胚胎的中线，并且需要细胞外纤连蛋白基质（Goto et al. 2005；Davidson et al. 2008）。这些相互嵌插，包括径向和中侧向，被 Wnt 信号启动的平面细胞极性（PCP）信号途径所稳定（Jessen et al. 2000；Shindo and Wallingford 2014；Ossipova et al. 2015）。第二种是差异性的细胞黏聚力。在原肠胚形成过程中，编码**轴旁原钙黏着蛋白**（**paraxial protocadherin**）和**中轴原钙黏着蛋白**（**axial protocadherin**）的基因开始分别特异地表达在轴旁中胚层（形成体节的中胚层；见第 17 章）和脊索中胚层。中轴原钙黏着蛋白的一个显性失活形式阻止未来脊索细胞从轴旁中胚层中分选出来，并抑制体轴的正常形成。而轴旁原钙黏着蛋白的显性失活形式（被分泌而不是与细胞膜绑定）阻止集中

延伸运动[3]（Kim et al. 1998；Kuroda et al.2002）。此外，轴旁原钙黏着蛋白的表达区域呈现躯干中胚层细胞的特征，这些细胞进行集中延伸运动，使它们有别于不进行集中延伸运动的头部中胚层细胞。调节集中延伸运动的第三个因素是钙离子流。Wallingford 及其同事（2001）发现，钙离子（Ca^{2+}）在进行集中延伸运动的背部组织中急剧波动，引起组织内的波动性收缩。钙离子从细胞内的储存中被释放出来，对集中延伸运动是必需的。如果阻止钙离子释放，正常的细胞特化依然发生，但背部中胚层既不集中也不延伸。这些发现支持集中延伸的一个模式，其中一些调节蛋白引起组织外表面变化并产生抑制或促进细胞迁移的机械牵引力（Beloussov et al. 2006；Davidson et al. 2008；Kornikova et al. 2009）。

这些经过背胚孔唇进入胚胎的中胚层细胞形成中央背部中胚层（脊索和体节），躯体中胚层的其余部分（将形成心脏、肾、骨及部分其他器官）经过胚孔的腹唇和侧唇进入胚胎后形成**中胚层套**（**mesodermal mantle**）。内胚层源自形成原肠腔顶部衬里的内卷边缘区的表层细胞，以及形成原肠腔底板的胚孔下部植物极细胞（Keller 1986）。胚孔的剩余部分，即内胚层和外胚层的接触处，变成肛门。原肠胚形成的研究专家 Ray Keller 有一句名言，“原肠胚形成是一个脊椎动物使它的头离开它的肛门的时候”。

网络话题 11.1　**中胚层套的迁移**　不同的生长速度与细胞层的嵌插相耦合，使中胚层以协调的方式扩展。

11.1.2.2　预定外胚层的外包

在原肠胚形成过程中，动物帽和非内卷边缘区（NIMZ）细胞通过外包而扩展，包裹整个胚胎（见图 11.7B）。这些细胞将形成表面外胚层。在非洲爪蛙的原肠胚形成过程中，外包的一个重要机制似乎是细胞数量的增加（通过分裂），以及同时发生的几个深层细胞层被整合成一层（**图 11.8**；Keller and Schoenwolf 1977；Keller and Danilchik 1988；Saka and Smith 2001）。非洲爪蛙进行外包的第二个机制是在囊胚腔顶将纤连蛋白组装成纤丝。这一纤丝状的纤连蛋白对动物帽细胞向植物极迁移和包裹胚胎有关键的作用（Rozario et al. 2009）。在非洲爪蛙和许多其他两栖类中，内卷中胚层前体细胞好像在囊胚腔顶部预定外胚层细胞分泌的纤连蛋白所组成的一个细胞外网格上向动物极迁移（**图 11.9A，B**）。

纤连蛋白对内卷中胚层的重要性被一些利用化学合成的多肽片段与纤连蛋白在胚胎中竞争结合位点的实验所验证（Boucaut et al. 1984）。如果纤连蛋白对细胞迁移是必需的，那么细胞与这些多肽片段结合后就不能再与纤连蛋白结合，因此它们就会停止迁移。如果无法找到它们的“道路”，这些预定中胚层细胞应该停止内卷。实际情况也恰好如此，中胚层前体停留在胚胎外部，形成一个卷绕的细胞团（**图 11.9C，D**）。因此，含有纤连蛋白的细胞外基质既提供了黏着的基质，也提供了细胞迁移方向的线索。

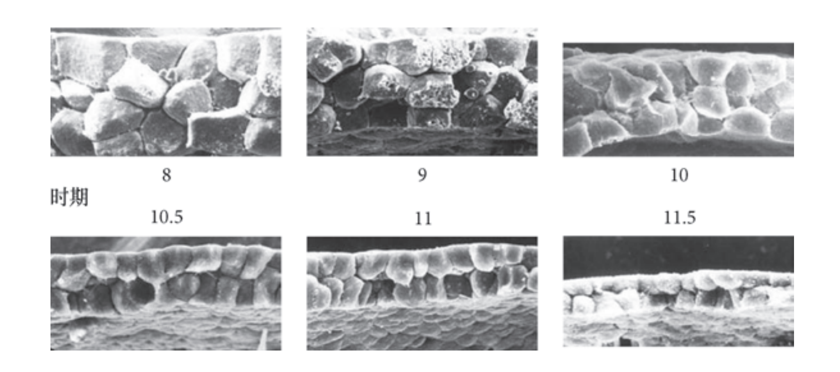


图 11.8　外胚层的外包伴随着细胞分裂和嵌插。非洲爪蛙囊胚腔顶的扫描电镜照片显示细胞形状和排列的变化。第 8 和第 9 期是囊胚期，第 10 ～ 11.5 期代表逐渐发育的原肠胚（来自 Keller 1980，由 R. E. Keller 提供）。

[3] 显性失活蛋白是野生型蛋白的突变形式，能够干扰野生型蛋白的正常功能。因此，一个显性失活蛋白的作用与编码这个蛋白质的基因发生功能缺失突变所产生的效果相似。

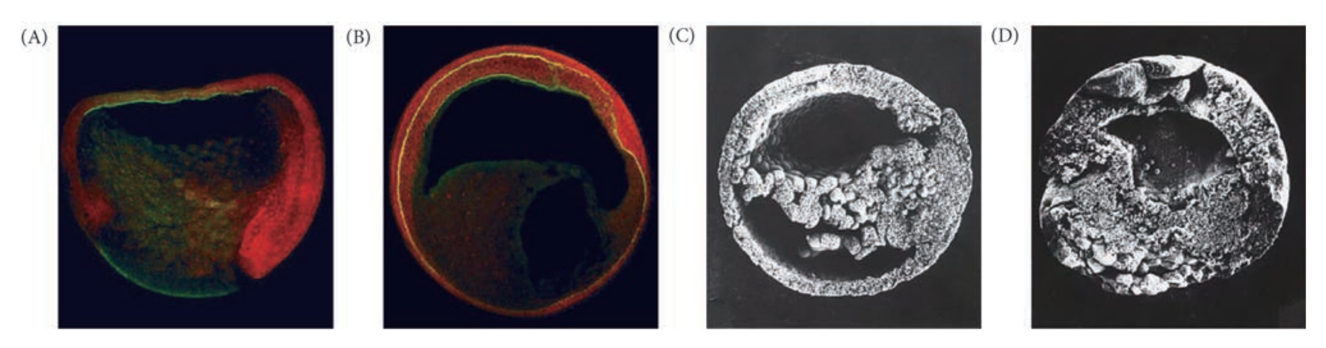


图 11.9 纤连蛋白和两栖类的原肠胚形成。(A，B) 非洲爪蛙胚胎原肠胚形成早期 (A) 和晚期 (B) 的矢状切面图。囊胚腔顶纤连蛋白网格由荧光标记的抗体（黄色）显示，胚胎细胞被复染成红色。(C) 在囊胚期注射对照溶液后发育正常的蝾螈胚胎的扫描电镜照片。(D) 在同时期注射与纤连蛋白竞争的多肽片段的蝾螈胚胎。原肠腔不能形成，中胚层前体没有进行内卷，依然停留在胚胎表面 (A 图和 B 图来自 Marsden and DeSimone 2001，照片由作者提供；C 图和 D 图来自 Boucaut et al. 1984，由 J.-C. Boucaut 和 J.-P. Thiery 提供）。

11.1.3 两栖类体轴的逐步决定

11.1.3.1 胚层的特化

如我们已经看到的那样，两栖类未受精的卵沿动 - 植物极轴呈现出极性，甚至在受精前就可以将胚层映射到卵母细胞。动物半球的卵裂球将变成外胚层（皮肤和神经）的细胞；植物半球的细胞变成肠及相关器官（内胚层）的细胞；而赤道区的细胞形成中胚层（骨骼、肌肉、心脏）。这个大致的命运图谱被认为是植物极细胞施加于胚胎的。植物极细胞具有两个主要功能：①分化成内胚层；②将紧邻其上部的细胞诱导成中胚层。

蛙胚胎的这种“自下而上”的特化机制与定位在植物极皮质的一组 mRNA 有关，其中包括在卵裂期间被分配在植物极细胞的转录因子 **VegT** 的 mRNA。VegT 对内胚层和中胚层谱系的形成至关重要。如果 VegT 的转录物被反义寡核苷酸破坏，整个胚胎都变成表皮，没有中胚层和内胚层成分 (Zhang et al. 1998；Taverner et al. 2005)。VegT 的 mRNA 在受精后不久便被翻译。它的产物在中囊胚期转换之前激活一组基因。其中一个基因编码转录因子 Sox17，而 Sox17 又激活一些特化内胚层的基因。因此，植物极细胞的命运是成为内胚层。

另一组被 VegT 激活的早期基因编码一些 Nodal 旁分泌因子，它们指令上部的细胞层变成中胚层 (Skirkanich et al. 2011)。植物极内胚层细胞分泌的 Nodal 向上部的细胞发送信号，使它们积累磷酸化的 Smad2。在这些细胞中，磷酸化的 Smad2 激活 *eomesodermin* 和 *Brachyury* (*Xbra*) 基因，将细胞特化为中胚层。Eomesodermin 和 Smad2 的共同作用又能激活 VegT 的合子基因，因此形成一个前馈环，对维持中胚层有关键的作用（图 11.10）。在没有这种诱导的情况下，细胞变成外胚层 (Fukuda et al. 2010)。

另外，存储在植物极细胞质的 Vg1 的 mRNA 也被翻译。它的产物（另一个与 Nodal 相似的蛋白质）参与激活背部中胚层的其他基因。如果抑制 Nodal 信号途径或阻断 Vg1 信号途径，胚胎就不能或者基本不能形成中胚层 (Kofron et al. 1999；Agius et al. 2000；Birsoy et al. 2006)。因此，到了囊胚晚期，重要的三个胚层就都已经被特化。植物极细胞被一些转录因子（如 Sox17) 特化成内胚层，赤道区的细胞被另一些转录因子（如 Eomesodermin) 特化成中胚层，而尚未接收信号的动物帽则被特化成外胚层（见图 11.10)。

11.1.3.2 背 - 腹和前 - 后轴

尽管动 - 植物极的极性起始了胚层的特化，前 - 后、背 - 腹及左 - 右轴被受精触发的一些事件所特化，但直到原肠胚形成时才开始显现出来。在非洲爪蛙（以及其他两栖类），前 - 后轴的形成与背 - 腹轴的形

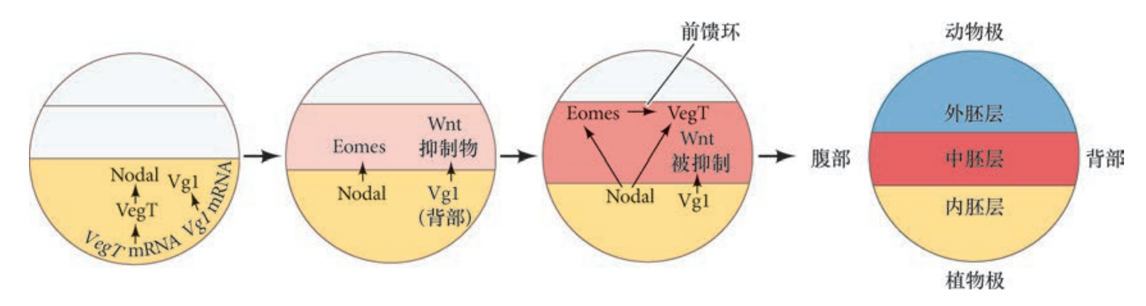


图 11.10　中胚层特化的模型。卵母细胞的植物极区域积累转录因子 VegT 的 mRNA 及（在未来的背部区域）Nodal 旁分泌因子 Vg1 的 mRNA。在囊胚晚期，Vg1 的 mRNA 被翻译后诱导未来背部中胚层转录多个 Wnt 拮抗因子（如 Dickkopf）的基因。VegT 信使被翻译后激活一些编码 Nodal 蛋白的细胞核基因。这些转化生长因子家族的成员在预定中胚层激活转录因子 Eomesodermin（Eomes）的表达。Eomesodermin 与被 Nodal 蛋白活化的 Smad2 共同作用，激活编码 VegT 的基因。通过这种方式，VegT 的表达从来自预定内胚层的母体 mRNA 转向预定中胚层的核基因（参考 Fukuda et al. 2010）。

成密切地联系在一起。如我们能够看到的那样，受精时发生的一些事件将转录调节因子 β- 联蛋白置于精子入卵点的相对区域，并将卵的这个区域特化为胚胎的背部区域。

一旦 β- 联蛋白定位于卵的背部区域，含有 β- 联蛋白的细胞将诱导一些基因的表达，并启动内卷中胚层的运动。这个运动将建立胚胎的前 - 后轴。最早经过背胚孔唇迁移的中胚层细胞将诱导其上部的外胚层细胞形成前部结构，如前脑；后来内卷的中胚层细胞指令外胚层形成更后部的结构，如后脑和脊髓。与下部的中胚层相互作用而形成中枢神经系统的过程称为初级胚胎诱导，是使脊椎动物胚胎变的有组织化的主要方式之一。的确，这个过程的发现者将背胚孔唇及其后代称为“组织者”，并且发现这一区域不同于胚胎的所有其他区域。在 20 世纪早期，德国弗莱堡大学 Hans Spemann 和他的学生开展的实验为实验胚胎学家在 20 世纪后半叶提出了一些需要探索的问题，也使 Spemann 在 1935 年获得了诺贝尔奖（见 Hamburger 1988；De Robertis and Aréchaga 2001；Sander and Fässler 2001）。

11.1.4　Hans Spemann 和 Hilde Mangold 的研究工作

11.1.4.1　自主性特化与诱导性相互作用

Spemann 实验室的研究计划起始于 1903 年的实验，当时 Spemann 发现早期蝾螈的卵裂球具有完全相同的细胞核，每个核都能够产生一个完整的幼体。他的实验过程非常有创意：Spemann 用婴儿（他女儿）的头发沿第一次分裂面“套索”受精后不久的蝾螈受精卵。然后，他部分地束紧受精卵，使核分裂只发生在束紧处的一侧。最终，通常是在 16 细胞期，一个细胞核通过束紧处逃逸到没有细胞核的一侧。而后，这一侧也开始卵裂。Spemann 将索套勒得更紧，直到两个半侧的胚胎完全分开。这样就发育出两个孪生幼体，只是一个比另一个发育得稍快（图 11.11）。从这个实验中 Spemann 得到结论，认为两栖类的早期细胞核是完全相同的，每个核都能形成一个完整的个体。

然而，Spemann 做了另一个类似的实验：他仍然纵向地束紧受精卵，但与第一次卵裂面垂直（也就是将未来的背部和腹部分开，而不是将左右两侧分开）。这时，他却得到了完全不同的结果。细胞核依然在勒紧处的两侧继续分裂，但只有一侧，也就是胚胎的未来背侧，形成了一个正常的幼体。而另一侧形成了一个无序的腹部细胞组织块。Spemann 将它称为 Bauchstück（“belly piece”，即“腹部组织块”）。这种球状的组织块含有表皮细胞（外胚层）、血液细胞、间充质（中胚层）和肠细胞（内胚层），但没有神经系统、脊索或者体节等背部结构。

为什么这两个实验会有如此不同的结果？一种可能性是，当卵被垂直于第一次卵裂面的方向分开时，一些细胞质物质没有被均匀地分布到卵的两个部分。幸运的是，蝾螈的卵是检验这一假设的良好工具。

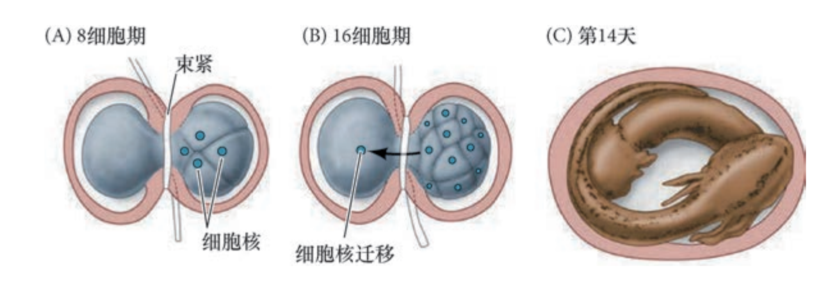


图 11.11 Spemann 对蝾螈卵裂过程中细胞核均等性的演示。(A) 把蝾螈 (*Triturus taeniatus*) 受精卵用细线束紧，细胞核被限制在胚胎的一侧。在这一侧的卵裂进行到 8 细胞期的时候，另一侧依然保持未分裂状态。(B) 在 16 细胞期，一个细胞核进入未分裂的一侧。这时进一步束紧细线，使两侧完全分开。(C) 14 天后，每一侧都发育成一个正常胚胎（参考 Spemann 1931）。

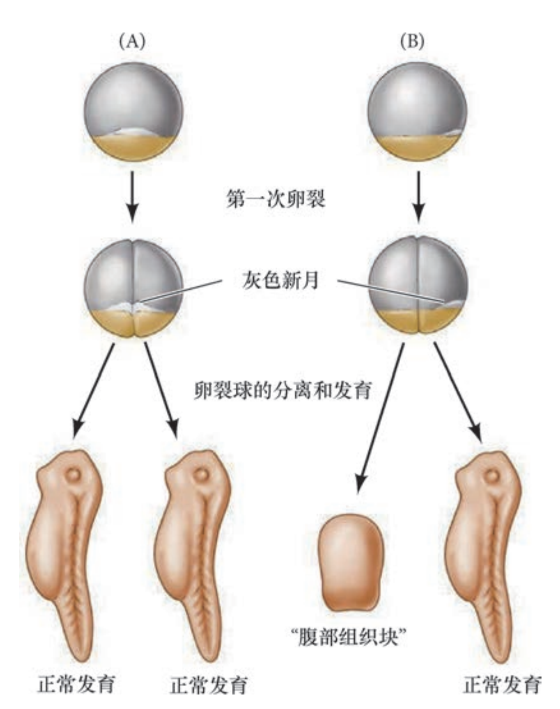


图 11.12 两栖类卵的不对称性。(A) 将卵沿第一次卵裂面分成两半，每一都得到一半灰色新月，那么用这种实验方法被人为分开的两个细胞都能发育成正常的胚胎。(B) 如果两个卵裂球的其中一个获得了完整的灰色新月，它将独自形成一个正常的胚胎。而另一个卵裂球形成一个缺失背部结构的无序组织块（参考 Spemann 1931）。

如在本章前面看到的那样（见图 11.2），受精后的两栖类卵发生剧烈的细胞质运动。在一些两栖类中，这些运动使细胞质在精子入卵点相对的位置呈现出一个灰色新月形的区域。第一次卵裂面通常将这一灰色新月区域均分到两个卵裂球（见图 11.2D）。如果这时将两个细胞分离，它们将发育出两个完整的幼体（**图 11.12A**）。然而，如果这一卵裂面异常（无论是偶尔性自然发生，还是由实验操作导致），灰色新月中的物质仅能进入其中一个卵裂球。Spemann 的工作显示，如果将两个卵裂球分开，只有其中一个细胞具有灰色新月时，那么具有灰色新月的卵裂球就能正常发育（**图 11.12B**）。

因此，似乎灰色新月区有某种东西对胚胎的正常发育是至关重要的。但是，它如何行使功能？在正常的发育过程中，它发挥什么样的作用？最重要的线索是，命运图谱显示灰色新月产生形成背唇的细胞。这些背唇细胞被定型向囊胚内陷、起始原肠胚形成、形成头部内中胚层和脊索。由于两栖类未来的所有发育都依赖于原肠胚形成过程中被重新排列的细胞之间的相互作用，Spemann 推测灰色新月物质的重要性在于它起始原肠胚形成的能力，并且在原肠胚形成过程中细胞潜能发生了关键性的变化。在 1918 年，他进行了一些实验，证明两种结论都是正确的。他发现早期原肠胚细胞尚未定型，但是晚期原肠胚细胞的命运已经被决定。

Spemann 利用两种具有显著色素差异的蝾螈（色素深的 *Triturus taeniatus* 和没有色素的 *Triturus cristatus*），将它们的原肠胚组织进行交换。如果把一种蝾螈的早期原肠胚预定外胚层移植到另一种蝾螈的早期原肠胚中预定神经组织的位置，那么移植的细胞就形成神经组织。如果把早期原肠胚预定神经组织移植到注定成为腹部皮肤的区域，那么神经组织就会变成表皮（**图 11.13A**；**表 11.1**）。因此，蝾螈的早期原肠胚细胞呈现条件性（诱导依赖性）特化：它们最终的命运取决于它们在胚胎中的位置。

然而，用晚期原肠胚进行这样的种间移植实验时，Spemann 得到了完全不同的实验结果。与早期的移植组织根据它们在胚胎中的新位置进行分化这一结果不同，移植的晚期细胞呈现出自主性（嵌合的、独立的）发育。因为它们的命运已经被决定，所以移植的细胞独立于它们在受体胚胎中的新位置而进行发育。特别是，即便把预定神经细胞移植到预定表皮区域，它们也仍然发育成脑组织（**图 11.13B**），或者把预定表皮细胞移植到神经管形成的区域，它们仍然形成皮肤组织。在原肠胚形成的早期和晚期这段时间内，这些细胞群体的最终分化途径已经被限定。某些东西使它们向表皮和神经命运定型。在这段时间内发生了什么？

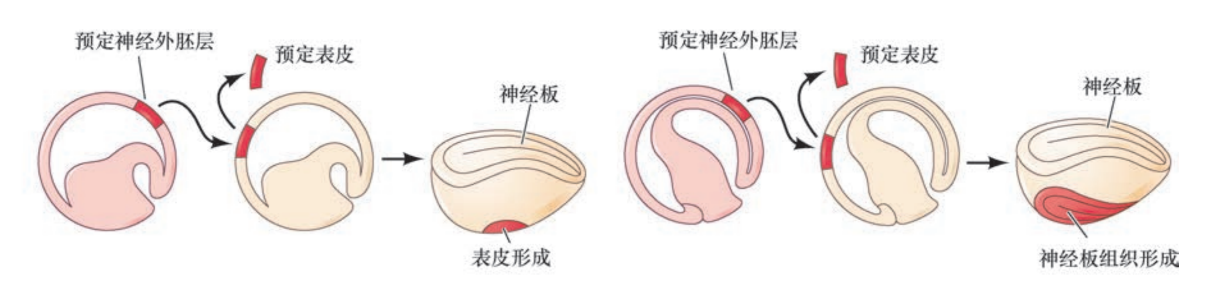


图 11.13　蝾螈原肠胚形成过程中外胚层的命运决定。从一个蝾螈胚胎取出的预定神经外胚层被移植到另一个胚胎在正常情况下将要成为表皮的区域。(A) 在早期原肠胚之间进行移植时，预定神经组织发育成表皮，只能看到一个神经板。(B) 在晚期原肠胚之间进行移植时，预定神经细胞形成神经组织，因此在受体胚胎中形成两个神经板（参考 Saxén and Toivonen 1962）。

表 11.1　**蝾螈早期原肠胚和晚期原肠胚组织移植的实验结果**

供体区域	受体区域	供体组织的分化	结论
早期原肠胚			
未来神经元	未来表皮	表皮	条件性发育
未来表皮	未来神经元	神经元	条件性发育
晚期原肠胚			
未来神经元	未来表皮	神经元	自主性发育
未来表皮	未来神经元	表皮	自主性发育

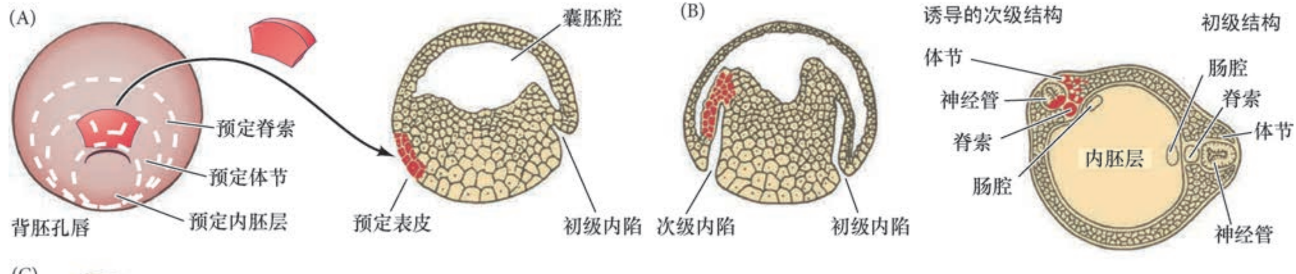
11.1.4.2　初级胚胎诱导

Spemann 和他的博士研究生 Hilde Mangold[4] 在 1924 年发表了最令人注目的移植实验结果。他们发现，在早期原肠胚的所有组织中只有一种组织的命运是自主决定的。这一自主决定的组织就是背胚孔唇，也就是与精子入卵点相对的灰色新月组织。当这一组织被移植到另一个原肠胚的预定腹部区域时，它不但继续作为背胚孔唇，而且能够在周围的组织中起始原肠胚形成和胚胎发生。

观察发育 11.5　Eddy De Robertis 博士所做的 Spemann-Mangold 实验。

在这些实验中，Spemann 和 Mangold 再次使用了具有不同色素的 *Triturus taeniatus* 和 *Triturus cristatus* 胚胎，这样他们就能够根据颜色来区别供体和受体组织。把 *Triturus taeniatus* 的一个早期原肠胚的背胚孔唇取出后移植到 *Triturus cristatus* 早期原肠胚将要发育成腹部表皮（腹部皮肤）的区域，像在正常发育中的情形一样（表现出自主决定），背胚孔唇组织内陷并消失在植物极细胞之下（**图 11.14A**）。而后，具有色素的供体组织继续自主分化，变成脊索中胚层（脊索）和在正常情况下从背胚孔唇分化出来的其他中胚层组织（**图 11.14B**）。随着来自供体的中胚层细胞不断向前移动，一些受体胚胎细胞开始参与形成一个新的胚胎，变成了一些它们在正常发育状况下绝对不会形成的器官。在第二个胚胎中，可以看到体节中既含有色素的（供体）组织，也含有无色素的（受体）组织。更令人惊奇的是，背胚孔唇细胞与受体胚胎的组织相互作用，从受体外胚层中诱导出完整的神经板。最终形成的第二个胚胎与受体胚胎面对面地联在一起（**图 11.14C**）。这些实验在技术上很困难，但其结果已经在许多两栖类中被多次验证，包括非洲爪蛙（**图 11.14D，E**；Capuron 1968；Smith and Slack 1983；Recanzone and Harris 1985）。

[4] Hilde Proescholdt Mangold 在 1924 年不幸死于发生在她厨房中的油气加热炉爆炸事故。当时她年仅 26 岁，她的论文即将发表。她的博士论文是为获得诺贝尔奖做出直接贡献的极少数生物学博士论文之一。有关 Hilde Mangold、她的时代，以及发现组织者的实验的详细资料，见 Hamburger 1984，1988；Fässler and Sander 1996。





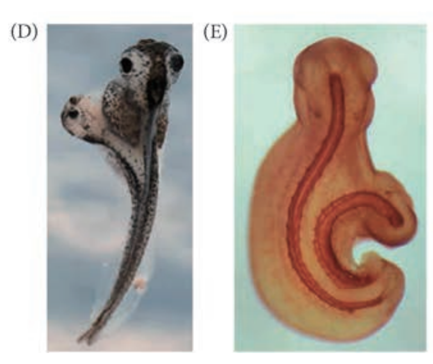


图 11.14 背胚孔唇对第二体轴的组织作用。(A～C) Spemann 和 Mangold 在 1924 年的实验利用具有不同色素的蝾螈胚胎显示了这一过程。(A) 从 *T. taeniatus* 的一个早期原肠胚取出的背唇组织被移植到 *T. cristatus* 的一个早期原肠胚预定变成腹部表皮的区域。(B) 供体组织内陷并形成第二个原肠腔，而后形成第二个体轴。在新形成的神经管、脊索和体节中既有供体组织，也有受体组织。(C) 最终，第二个胚胎形成后与受体胚胎连接在一起。(D) 把背唇移植到非洲爪蛙的早期原肠胚受体的腹部后，形成双生联体胚胎。(E) 类似的双生联体中脊索被染色，可见初级和第二脊索 (A～C 图参考 Hamburger 1988；D 图和 E 图照片由 A. Wills 拍摄，由 R. Harland 提供)。

Spemann 将背唇细胞及其衍生组织 (脊索和头部内中胚层) 称为**组织者** (**organizer**)，因为：①它们诱导受体的腹部组织改变命运，形成神经管和背部中胚层组织 (如体节)；②它们将受体和供体的细胞组织成一个具有明显前 - 后和背 - 腹轴的次级胚胎。他提出，在正常发育过程中，这些细胞“组织”背部外胚层形成神经管，并将侧翼的中胚层转变成前 - 后轴 (Spemann 1938)。现在我们知道 (主要得益于 Spemann 及其学生) 脊索中胚层和外胚层的相互作用不足以组织整个胚胎；相反，它起始了一系列顺序性的诱导事件。因为胚胎发育过程中有许多诱导事件，这一关键的诱导 (也就是背唇细胞的后代诱导背部体轴和神经管) 传统上被称为**初级胚胎诱导** (**primary embryonic induction**)。然而，这一经典术语也是产生混淆的根源，因为脊索对神经管的诱导不再被认为是胚胎中最早的诱导过程。我们马上就会讨论这一“初级”诱导之前发生的一些诱导事件。

网络话题 11.2 **Spemann、Mangold 及组织者** Spemann 和 Mangold 第一次做这个工作时，Spemann 并没有意识到它的重要性。这一网络话题更加详细地回顾了 Spemann 和 Mangold 为什么要做这一独特的实验。

11.1.5 两栖类体轴形成的分子机制

Spemann 和 Mangold 的实验显示，胚孔的背唇与它所形成的背部中胚层和咽内胚层共同构成了一个能够指令胚胎体轴形成的“组织者”。但是，组织者自身构建和运作的机制仍然是一个谜。的确，据说 Spemann 和 Mangold 的里程碑论文所引出的问题比回答的问题更多。这些问题包括：

- 组织者如何获得其特性？是什么导致了背胚孔唇有别于胚胎的任何其他部分？
- 组织者分泌一些什么样的因子，诱导神经管的形成并建立前 - 后、背 - 腹和左 - 右轴？

- 神经管的不同部分是如何建立的，以至于最前部形成感觉器官和前脑，最后部变成脊髓？

Spemann 和 Mangold 对组织者的描述成为首个真正意义上的国际科学研究项目之一的起点（见 Gilbert and Saxén 1993；Armon 2012）。英国、德国、法国、美国、比利时、芬兰、日本和苏联的一些研究人员都参与了寻找赋予组织者能力的奇妙物质。R. G. Harrison 把两栖类的原肠胚看成是“一个新的育空（Yukon，加拿大西北地区——译者注），急不可耐的矿工们蜂拥到胚孔的周围淘金”（见 Twitty 1966，第 39 页）。遗憾的是，他们在早期使用的“镐”和“铲”太钝，以至于未能发现相关的分子。参与诱导的那些蛋白质的浓度太低，很难进行生物化学分析，而且两栖类卵中的大量卵黄和脂质又进一步干扰了蛋白质的纯化（Grunz 1997）。对组织者分子的分析不得不等到 DNA 重组技术使得研究人员能够从胚孔唇的 mRNA 中制备 cDNA 克隆，进而观察哪一个克隆可以编码导致胚胎背部化的因子（Carron and Shi 2016）。现在我们可以回过来讨论上面的问题了。

11.1.5.1　组织者是怎样形成的？

为什么十几个初始的组织者细胞被定位于精子入卵点的相对位置，又是什么那么早地决定了它们的命运？最近的证据提供了一个出乎预料的答案：这些细胞在正确的时间处在正确的位置，位于两个信号的交汇点。第一个信号告诉这些细胞，它们是背部的；第二个信号说这些细胞是中胚层。这些信号相互作用而在中胚层内建立极性，这是特化组织者和建立背 - 腹极性的基础。

背部信号：β- 联蛋白　Pieter Nieuwkoop 和 Osamu Nakamura 的实验显示，组织者因为接收其下部未来内胚层的信号而获得了它的特殊特性。Nakamura 和 Takasaki（1970）证明，中胚层来自位于动物极和植物极之间的边缘（赤道）细胞。而后，Nakamura 和 Nieuwkoop 的实验室显示，新形成的中胚层的特性能被下面的植物极（预定内胚层）细胞所诱导。Nieuwkoop（1969，1973，1977）把囊胚的赤道细胞（也就是预定中胚层）去除后发现，动物帽（预定外胚层）和植物帽（预定内胚层）都不能产生任何中胚层组织。然而，把这两个帽组合后，动物帽细胞被诱导形成中胚层组织，如脊索、肌肉、肾细胞和血细胞。这一诱导的极性（也就是动物帽细胞是形成背部中胚层还是形成腹部中胚层）取决于内胚层（植物极）组织块的位置：腹部和侧部的植物极细胞（更靠近精子入卵点的细胞）诱导腹部（间充质、血液）和居间（肾）中胚层，而最背部的植物极细胞特化背部中胚层的成分（体节、脊索），包括那些具有组织者特性的部分。囊胚最背部的植物极细胞能够诱导组织者（Gerhart et al. 1989），这些细胞被称为 **Nieuwkoop 中心**（**Nieuwkoop center**）。

非洲爪蛙胚胎的组织移植和重组实验证明了 Nieuwkoop 中心。首先，Gimlich 和 Gerhart（Gimlich and Gerhart 1984；Gimlich 1985，1986）完成了一个与 Spemann 和 Mangold 的研究相类似的实验，但他们使用了非洲爪蛙的早期囊胚，而不是蝾螈的原肠胚。当他们将囊胚的植物半球最背部的卵裂球移植到另一个囊胚的植物半球腹部时，胚胎形成了两个体轴（**图 11.15A**）。其次，Dale 和 Slack（1987）把非洲爪蛙 32 细胞期胚胎的一个植物极卵裂球与荧光标记的同一时期胚胎的最上层动物极细胞组合在一起，不出所料，最背部的植物极细胞诱导动物极细胞变成背部中胚层。其余的植物极细胞通常诱导动物极细胞产生居间或者腹部中胚层组织（**图 11.15B**）。Holowacz 和 Elinson（1993）发现，将非洲爪蛙 16 细胞期胚胎背部植物极细胞的皮质细胞质注射到腹部植物极细胞能够诱导第二体轴的形成。因此，背部植物极细胞能够诱导动物极细胞变成背部中胚层组织。

因此，一个重要的问题是什么赋予了最背部植物极细胞的特殊特性？在植物极细胞中形成 Nieuwkoop 中心的主要候选因子是 β- 联蛋白。我们在第 10 章看到 β- 联蛋白参与特化海胆胚胎的小分裂球。这一多功能的蛋白质也被证明对两栖类背部组织的形成有重要作用。用实验方法去除这一分子导致背部结构的缺失（Heasman et al. 1994a），而将外源的 β- 联蛋白注射到胚胎的腹部则会产生第二个体轴（Funayama et al. 1995；Guger and Gumbiner 1995）。

在非洲爪蛙，β- 联蛋白最初由母体的 mRNA 在整个胚胎中合成（Yost et al. 1996；Larabell et al.

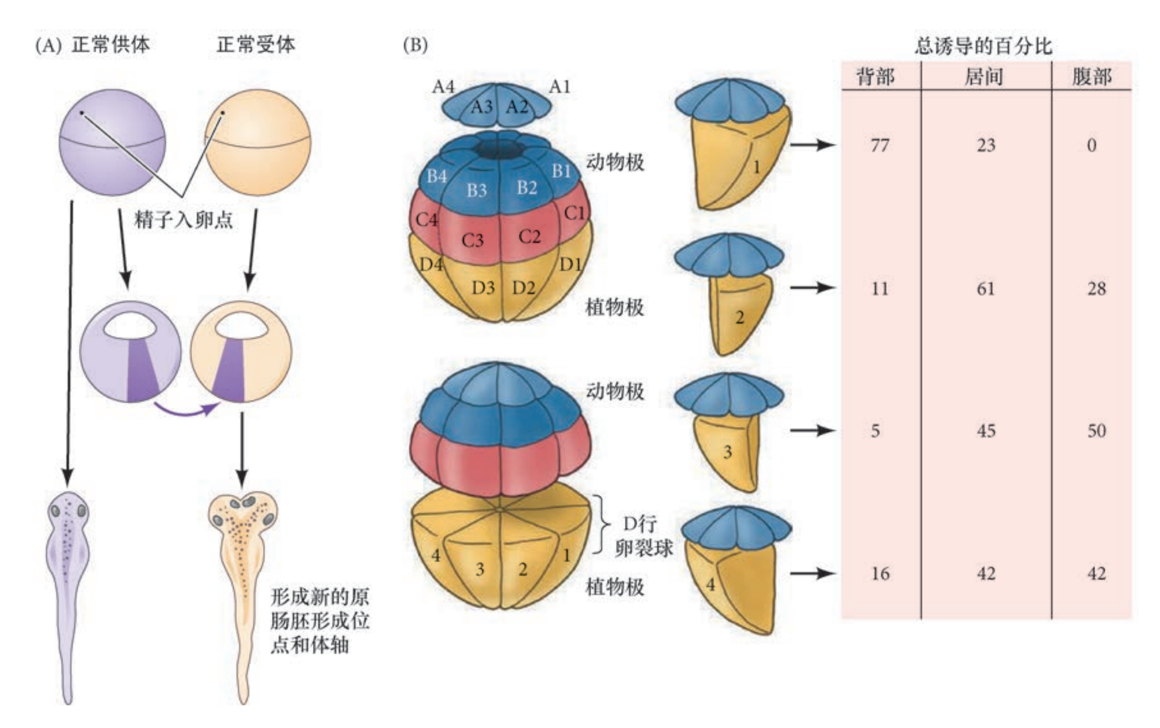
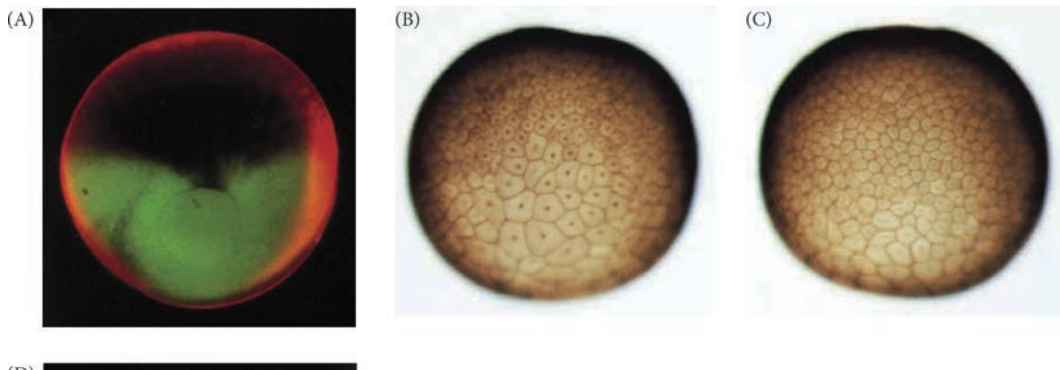


图 11.15 非洲爪蛙胚胎组织的移植和重组实验显示未来背胚孔唇下方的植物极细胞具有起始原肠胚形成的能力。(A) 将 64 细胞期胚胎的最背部植物极细胞移植到另一胚胎的最腹部植物极区域时，产生一个新的原肠胚形成位点和一个新的体轴。(B) 将非洲爪蛙 32 细胞期胚胎的卵裂球组合后，显示中胚层诱导的区域特异性。用荧光聚合物标记动物极细胞，以便追踪其后代细胞，而后与单个的植物极卵裂球分别组合在一起。右侧概括了这些组合产生的诱导效果。D1 是最背部的植物极卵裂球，它最有可能诱导动物极细胞形成背部中胚层。这些最背部的植物极细胞组成 Nieuwkoop 中心 (A 图参考 Gimlich and Gerhart 1984；B 图参考 Dale and Slack 1987)。

1997)。受精时的细胞质运动使它开始在卵的背部区域积累，并且在整个早期卵裂过程中继续更多地在背部积累。这种积累见于背部的细胞核，似乎覆盖了 Nieuwkoop 中心和组织者区域（图 11.16；Schneider et al. 1996；Larabell et al. 1997）。



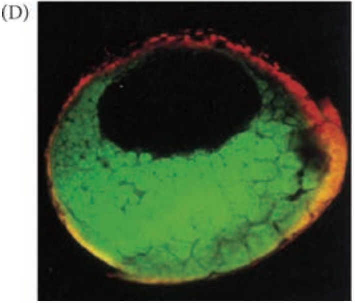


图 11.16 Wnt 信号途径的蛋白质在背 - 腹轴特化中的作用。(A ～ D) β- 联蛋白向非洲爪蛙卵裂球细胞核的差异性转运。(A) 2 细胞期的早期，显示 β- 联蛋白（橙色）主要在背部表面。(B) 囊胚中 β- 联蛋白的染色，显示它在背部细胞中定位于细胞核。(C) 在同一胚胎的腹部细胞中没有这样的细胞核定位。(D) β- 联蛋白的背部定位持续到原肠胚时期 (A 图和 D 图由 R. T. Moon 提供；B 图和 C 图来自 Schneider et al. 1996，由 P. Hausen 提供）。

如果 β- 联蛋白最初分布在整个胚胎，那么它是怎样特异地定位在精子入卵点的对侧？这个问题的答案似乎存在于三个蛋白质在卵皮质细胞质的定位。在受精过程中，Wnt11、糖原合成酶激酶 -3 结合蛋白（GBP）及 Dishevelled（Dsh）从卵的植物极转运到胚胎的未来背部。从 Wnt 信号途径的研究中我们知道 β- 联蛋白是糖原合成酶激酶 -3（GSK3；见第 4 章）的降解靶标。的确，活化的 GSK3 能促进 β- 联蛋白的降解。如果高表达 GSK3，它就会抑制体轴的形成；如果用显性失活形式的 GSK3 敲减早期胚胎腹部细胞中的内源蛋白，会导致第二个体轴的形成（见图 11.17F；He et al. 1995；Pierce and Kimelman 1995；Yost et al. 1996）。

GBP 和 Dsh 能使 GSK3 失活。这两个蛋白质将 GSK3 从降解复合物中释放出来，阻止它结合和靶向降解 β- 联蛋白。在第一个细胞周期过程中，微管在卵的植物极部分形成平行的微管束，GBP 与驱动蛋白结合并沿微管运动。驱动蛋白是一种沿微管运动的 ATP 酶马达蛋白。它总是向微管生长的末端迁移，所以在这个情况下，它向精子入卵点相对的位置运动，也就是向将来的背部运动（**图 11.17A ～ C**）。最初分布在植物极皮质的 Dsh 蛋白结合 GBP，也沿着微管的单轨转运（Miller et al. 1999；Weaver et al. 2003）。皮质旋转可能对微管排列的定向和拉伸，以及转运方向的维持起重要作用（Weaver and Kimelman 2004）。一旦处于精子入卵点的相对位置，GBP 和 Dsh 从微管上释放出来。在胚胎未来的背部，它们使 GSK3 失活。β- 联蛋白在背部积累，但在腹部被降解（**图 11.17D，E**）。

但是，仅依赖于这些蛋白质的胚胎背部转运可能还不足以保护 β- 联蛋白。在背部似乎还需要分泌一个 Wnt 旁分泌因子以激活 β- 联蛋白的保护途径，这由 Wnt11 完成。如果 Wnt11 的合成被抑制（向卵母细胞中注射 Wnt11 的反义寡核苷酸），组织者便不能形成。此外，在卵子发生过程中，Wnt11 的 mRNA 定位于植物极的皮质，而后经过卵细胞质的皮质旋转被转运至胚胎的未来背部（Tao et al. 2005；Cuykendall and Houston 2009）。在这个位置它被翻译成蛋白质，并在胚胎的背部富集和分泌（Ku and Melton 1993；Schroeder et al. 1999；White and Heasman 2008）。

因此，在第一次卵裂期间，GBP、Dsh 和 Wnt11 被转运至胚胎的未来背部区域，在那里 GBP 和 Dsh 能起始 GSK3 的失活和随后 β- 联蛋白的保护。来自 Wnt11 的信号扩增这一信号，并稳定 GBP 和 Dsh，组织它们保护 β- 联蛋白。β- 联蛋白能结合其他转录因子，赋予这些因子新的特性。例如，在非洲爪蛙中 β- 联蛋白结合一个泛表达的转录因子 Tcf3，将 Tcf 阻遏物转变成一个转录激活物。表达一个失去 β- 联蛋白结合域的 Tcf3 突变形式，将导致胚胎背部结构的缺失（Molenaar et al. 1996）。

β- 联蛋白 /Tcf3 复合物结合多个基因的启动子，而这些基因在体轴形成中具有关键作用。其中两个基因——*twin* 和 *siamois*，编码同源异形域转录因子，并且在中囊胚期转换之后迅速表达在组织者区域。如果在腹部细胞中异位表达这些基因，胚胎的腹部会出现第二个体轴。如果皮质微管的聚合被抑制，*siamois* 的表达就会消失（Lemaire et al. 1995；Brannon and Kimelman 1996）。在没有 β- 联蛋白的情况下，Tcf3 与 *siamois* 和 *twin* 的启动子结合并抑制它们的转录。然而，β- 联蛋白与 Tcf3 结合时，这个阻遏物被转变成激活物，*twin* 和 *siamois* 便被转录（**图 11.18**）。

Siamois 和 Twin 蛋白结合多个参与组织者功能的基因的增强子（Fan and Sokol 1997；Bae et al. 2011）。它们包括编码转录因子 Goosecoid 和 Xlim1 的基因（对背部中胚层的特化至关重要），以及一些旁分泌因子的拮抗剂，如头蛋白、Chordin、Frzb 和 Cerberus 的基因（特化外胚层成为神经外胚层；Laurent et al. 1997；Engleka and Kessler 2001）。在植物极细胞中，Siamois 和 Twin 似乎与植物极的转录因子共同激活一些内胚层基因（Lemaire et al. 1998）。因此，人们可以预期，如果胚胎的背部含有 β- 联蛋白，那么 β- 联蛋白将使这一区域表达 Twin 和 Siamois，它们再起始组织者的形成。

植物极的 Nodal 相关信号　还有一个因子似乎在组织者特异性基因的激活中至关紧要。这个因子是磷酸化的 Smad2 转录因子（之前已有讨论），它对中胚层的形成是必不可少的。Smad2 应答中胚层下部植物极细胞分泌的 Nodal 相关旁分泌因子，在中胚层细胞内发生磷酸化时被激活（Brannon and Kimelman 1996；Engleka and Kessler 2001）。活化的 Smad2 通常与一个伙伴蛋白结合后形成一个发挥转录因子功能的复合物。

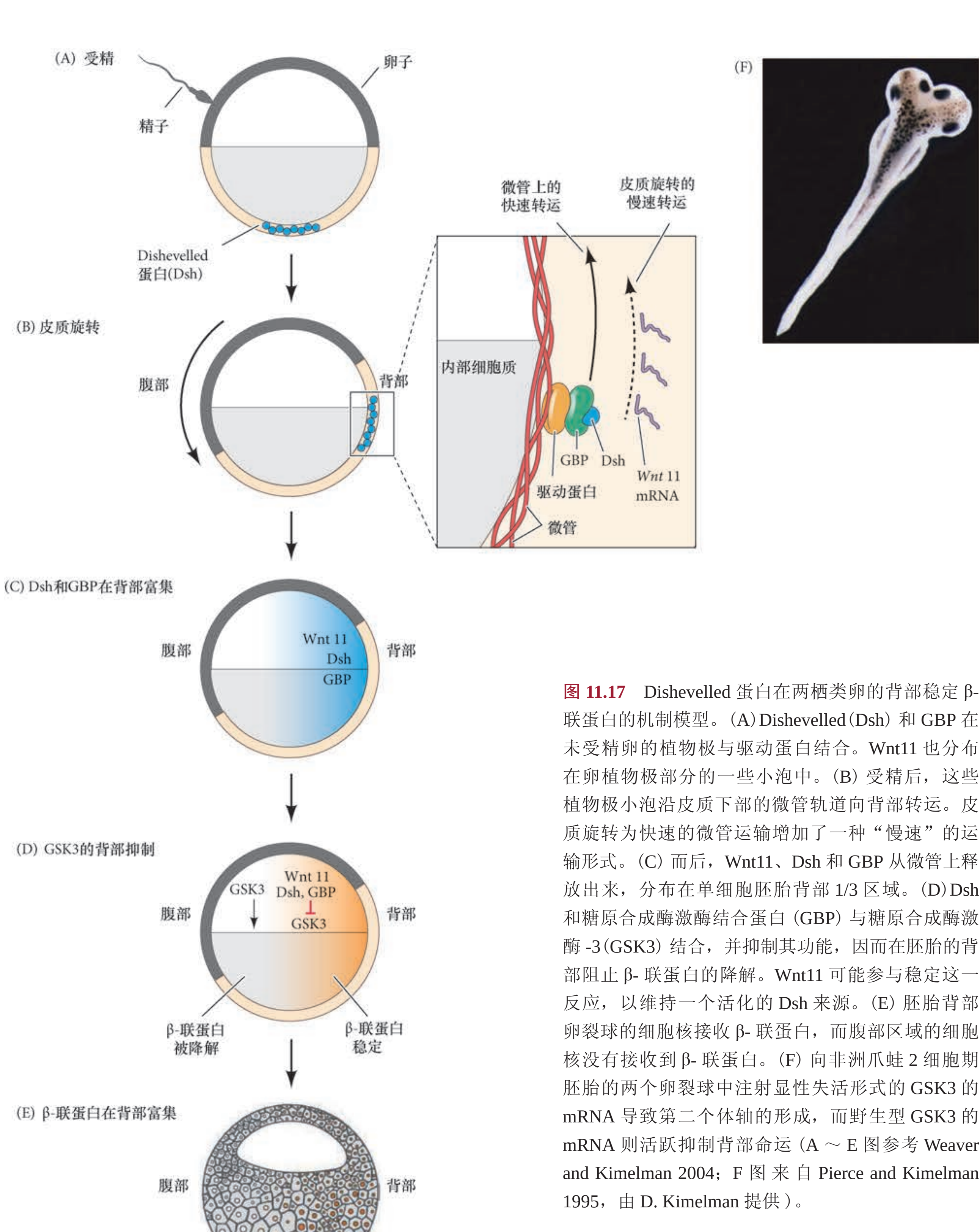


图 11.17 Dishevelled 蛋白在两栖类卵的背部稳定 β-联蛋白的机制模型。(A) Dishevelled (Dsh) 和 GBP 在未受精卵的植物极与驱动蛋白结合。Wnt11 也分布在卵植物极部分的一些小泡中。(B) 受精后，这些植物极小泡沿皮质下部的微管轨道向背部转运。皮质旋转为快速的微管运输增加了一种“慢速”的运输形式。(C) 而后，Wnt11、Dsh 和 GBP 从微管上释放出来，分布在单细胞胚胎背部 1/3 区域。(D) Dsh 和糖原合成酶激酶结合蛋白 (GBP) 与糖原合成酶激酶 -3 (GSK3) 结合，并抑制其功能，因而在胚胎的背部阻止 β- 联蛋白的降解。Wnt11 可能参与稳定这一反应，以维持一个活化的 Dsh 来源。(E) 胚胎背部卵裂球的细胞核接收 β- 联蛋白，而腹部区域的细胞核没有接收到 β- 联蛋白。(F) 向非洲爪蛙 2 细胞期胚胎的两个卵裂球中注射显性失活形式的 GSK3 的 mRNA 导致第二个体轴的形成，而野生型 GSK3 的 mRNA 则活跃抑制背部命运 (A ～ E 图参考 Weaver and Kimelman 2004；F 图来自 Pierce and Kimelman 1995，由 D. Kimelman 提供)。

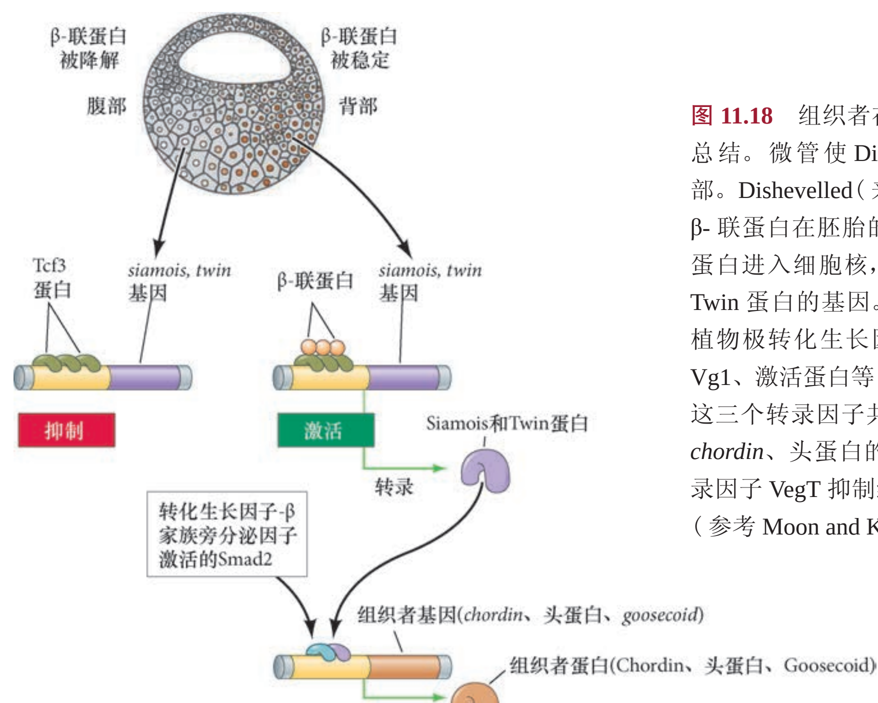


图 11.18　组织者在背部中胚层形成时一些推测事件的总结。微管使 Dishevelled 和 Wnt11 转运至胚胎的背部。Dishevelled（来自植物极皮质）与 GSK3 结合，使 β- 联蛋白在胚胎的未来背部积累。在卵裂期间，β- 联蛋白进入细胞核，与 Tcf3 结合，激活编码 Siamois 和 Twin 蛋白的基因。Siamois 和 Twin 在组织者的位置与植物极转化生长因子 -β 家族成员（Nodal 相关蛋白、Vg1、激活蛋白等）激活的转录因子 Smad2 相互作用。这三个转录因子共同激活一些“组织者”的基因，如 *chordin*、头蛋白的基因和 *goosecoid*。位于内胚层的转录因子 VegT 抑制组织者基因在组织者之外的区域表达（参考 Moon and Kimelman 1998）。

在囊胚晚期，内胚层呈现一个 Nodal 相关蛋白的梯度，在腹部的浓度较低而在背部的浓度较高（Onuma et al. 2002；Rex et al. 2002；Chea et al. 2005）。因为 Vg1 和 Nodal 相关蛋白以相同的方式发挥作用（也就是激活 Smad2 转录因子），我们可以预期它们将产生一个累加信号（Agius et al. 2000）。的确，实际情况似乎确是如此。

Nodal 相关梯度的形成在很大程度上受 β- 联蛋白的激活。高水平的 β- 联蛋白激活 Nodal 相关基因的表达（**图 11.19**）。在最背部（Nieuwkoop 中心）的卵裂球中，甚至早在中囊胚期转换之前，β- 联蛋白与

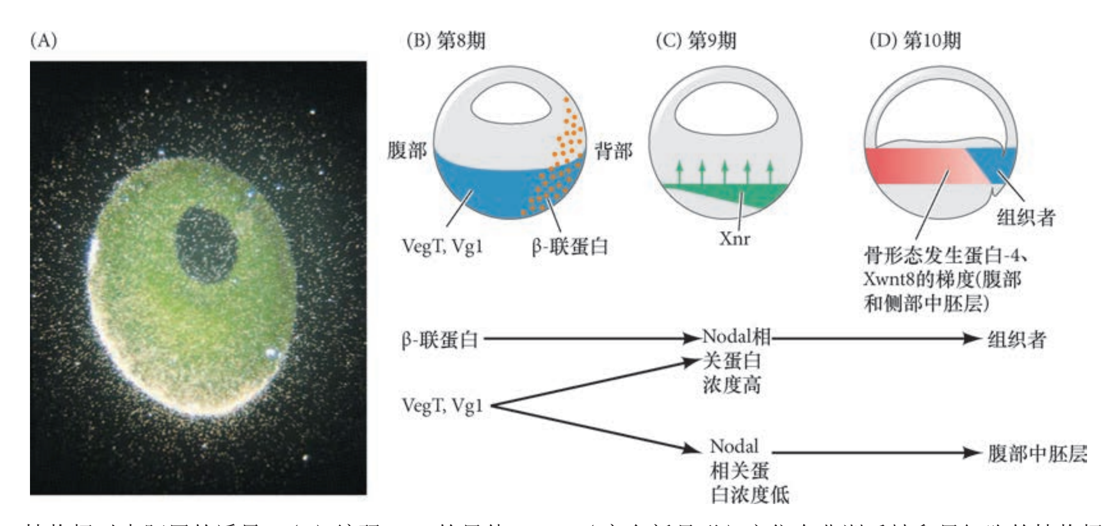


图 11.19　植物极对中胚层的诱导。(A) 编码 Vg1 的母体 mRNA（亮白新月形）定位在非洲爪蛙卵母细胞的植物极皮质。这一信使（与母体 *VegT* 信使一起）在受精时被翻译。这两个蛋白质对赋予植物极细胞诱导上部细胞形成中胚层的能力有关键作用。(B ～ D) β- 联蛋白和转化生长因子 -β 的相互作用诱导中胚层和组织者形成的模型。(B) 在囊胚晚期，Vg1 和 VegT 位于植物半球；而 β- 联蛋白位于背部。(C) β- 联蛋白与 Vg1 和 VegT 协同作用，激活非洲爪蛙的 *nodal* 相关基因（*Xnr*），在内胚层中建立一个背部区域浓度最高的 Xnr 蛋白的梯度。(D) Xnr 的梯度特化中胚层。含有少量或者没有 Xnr 的中胚层区域具有高水平的骨形态发生蛋白 -4 和 Xwnt8，这个区域发育成腹部中胚层；含有中等浓度 Xnr 的区域发育成侧部中胚层；在含有高浓度 Xnr 的区域，*goosecoid* 和其他背部中胚层基因被激活，中胚层组织发育成组织者（A 图由 D. Melton 提供；B ～ D 图参考 Agius et al. 2000）。

VegT 转录因子协同激活非洲爪蛙的 *nodal* 相关基因 1、5、6（*Xenopus nodal-related 1*，*5*，*6*；*Xnr1*，*5*，6）。更腹部的内胚层卵裂球不表达这些 *nodal* 相关基因。在将要成为组织者的最前部（咽内胚层）区域，高水平的 Nodal 相关蛋白产生高水平的活化 Smad2。Smad2 与 *hhex* 基因的启动子结合。Hhex 与 Twin 和 Siamois 协同作用，激活一些基因的表达，这些基因将咽内胚层细胞特化变成前肠内胚层，并使咽内胚层细胞诱导前部脑的发育（Smithers and Jones 2002；Rankin et al. 2011）。稍低水平的 Smad2 能在将要变成索前中胚层和脊索的细胞中激活 *goosecoid* 的表达。更低水平的 Smad2 导致侧部中胚层和腹部中胚层的形成。

总之，相互交织的信号途径对一些关键转录因子的激活使背部中胚层和组织者得以形成。第一个信号是 Wnt/β- 联蛋白信号途径，激活编码 Siamois 和 Twin 转录因子的基因。第二个信号是激活 Nodal 相关旁分泌因子表达的植物极途径，这些旁分泌因子进而在上部的中胚层细胞激活 Smad2 转录因子。高水平的 Smad2 与 Siamois/Twin 转录因子在背部中胚层细胞共同发挥作用，激活一些赋予这些细胞“组织者”特性的基因（Germain et al. 2000；Cho 2012；回顾图 11.17 ～图 11.19）。

 **科学家讲座 11.1** Daniel Kessler 博士讨论两栖类初级胚胎诱导的分子机制。

11.1.5.2 组织者的功能

虽然 Nieuwkoop 中心的细胞一直都是内胚层，但组织者的细胞变成背部中胚层，并在背部外胚层的下方迁移。组织者的细胞最终参与形成四种细胞类型：咽内胚层、头部中胚层（索前板）、背部中胚层（主要是脊索）、背胚孔唇（Keller 1976；Gont et al. 1993）。咽内胚层和索前板引导组织者的迁移，并诱导前脑和中脑。背部中胚层诱导后脑和躯干。一直保留到原肠胚形成结束的背胚孔唇最终变成诱导尾部末端的脊索神经铰合点。组织者具有以下四个主要特性：

1. 自主分化成背部中胚层（索前板、脊索中胚层等）的能力；
2. 将周围的中胚层“背部化”成为轴旁中胚层（形成体节，否则这些细胞将成为腹部中胚层）的能力；
3. 将外胚层“背部化”和诱导形成神经管的能力；
4. 起始原肠胚形成运动的能力。

网络话题 11.3 **寻找组织者分子的早期尝试** 尽管 Spemann 不相信一些分子能独自组织胚胎，但他的学生们还是开始了漫长的探索，寻找那些在组织者区域内参与组织胚胎的因子。

11.1.5.3 神经外胚层和背部中胚层的诱导：骨形态发生蛋白抑制物

来自实验胚胎学的证据表明，组织者最关键的特性之一是它能产生一些可溶性因子。组织者分泌一些扩散性信号的证据来自几个方面。首先，Hans Holtfreter（1933）显示，如果脊索不能在外胚层下部迁移，那么外胚层将不会变成神经组织（将会变成表皮）。关于可溶性因子重要性更确切的证据后来被芬兰研究人员的过滤膜实验所证明（Saxén 1961；Toivonen et al. 1975；Toivonen and Wartiovaara 1976）。在这个实验中，蝾螈的背唇组织被放在一张孔隙很小的滤膜一侧，以至于细胞突出不能穿过，而具有应答能力的原肠胚外胚层被置于另一侧。几小时以后，外胚层组织中便出现了神经结构（图 11.20）。然而，研究人员用了 1/4 个世纪的时间才发现了组织者扩散性因子的身份。

后来证明这些科学家是在寻找错误的机制。他们想找到一个被组织者分泌和被外胚层接收的分子，这个分子有可能将外胚层转变成神经组织。然而，一些分子研究却得出了一个令人惊讶但并非显而易见的结论：是表皮，而不是神经组织，被诱导而形成。外胚层与**骨形态发生蛋白**（**bone morphogenetic protein，BMP**）结合后被诱导成为表皮组织，而神经系统形成自外胚层被一些骨形态发生蛋白抑制分子

保护以不受表皮诱导的区域（Hemmati-Brivanlou and Melton 1994，1997）。换句话说：①外胚层的“默认状态”是变成神经组织；②胚胎的某些部分通过分泌骨形态发生蛋白而诱导外胚层变成表皮组织；③组织者通过分泌一些阻断骨形态发生蛋白的分子而发挥作用，因此使外胚层受到这些骨形态发生蛋白抑制物的“保护”以形成神经组织。

所以，骨形态发生蛋白诱导初始状态的外胚层细胞变成表皮，而组织者产生一些阻止这一诱导的物质（Wilson and Hemmati-Brivanlou 1995；Piccolo et al. 1996；Zimmerman et al. 1996；Iemura et al. 1998）。在非洲爪蛙中，一些主要的表皮诱导物是骨形态发生蛋白 -4（BMP4）及其近亲骨形态发生蛋白 -2（BMP2）、骨形态发生蛋白 -7（BMP7）和抗背部化形态发生蛋白（ADMP）。最初，一些骨形态发生蛋白（如 BMP4）在晚期囊胚的整个外胚层和中胚层区域都表达。然而，在原肠胚形成过程中，Siamois 和 Twin 诱导的一些转录因子（如 Goosecoid）抑制 *bmp4* 基因在胚胎背部区域的转录，使它的表达被限制在侧腹部的边缘区（Blitz and Cho 1995；Yao and Kessler 2001；Hemmati-Brivanlou and Thomsen 1995；Northrop et al. 1995；Steinbeisser et al. 1995）。在外胚层，骨形态发生蛋白抑制参与神经组织形成的基因（如 *Foxd4* 和 *neurogenin*），同时激活其他参与表皮特化的基因（Lee et al. 1995）。在中胚层，骨形态发生蛋白表达水平的梯度似乎能激活不同的中胚层基因：没有 BMP4 时特化背部中胚层；低水平时特化居间中胚层；高水平时特化腹部中胚层（图 11.21；Gawantka et al. 1995；Hemmati-Brivanlou and Thomsen 1995；Dosch et al. 1997）。

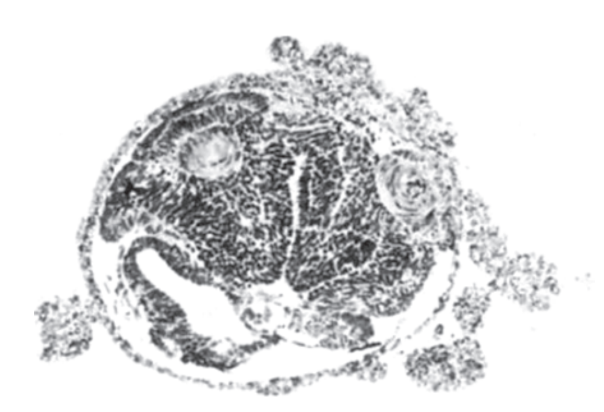


图 11.20　蝾螈背唇组织诱导预定外胚层形成神经结构。背唇和外胚层被核孔滤膜隔开，滤膜的平均孔径为 0.05 mm。一些前部神经组织显而易见，包括一些被诱导形成的眼结构（来自 Toivonen 1979，图由 L. Saxén 提供）。

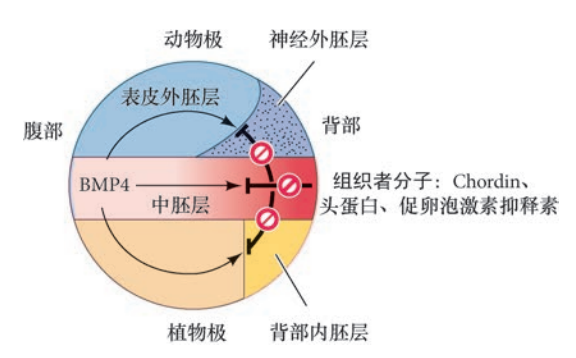


图 11.21　组织者的作用模型。BMP4（和其他一些分子）是一个强效的腹部化因子。一些组织者蛋白，如 Chordin、头蛋白（Noggin）和促卵泡激素抑释素（Follistatin），抑制骨形态发生蛋白 -4（BMP4）的功能。这些蛋白质在三个胚层中都具有抑制作用（参考 Dosch et al. 1997）。

组织者通过阻断骨形态发生蛋白而发挥作用。组织者分泌的三个主要的骨形态发生蛋白抑制物是头蛋白、Chordin 和促卵泡激素抑释素。编码这些蛋白质的基因是 Smad2 和 Siamois/Twin 所激活的一部分最为关键的基因（Carnac et al. 1996；Fan and Sokol 1997；Kessler 1997）。第四个骨形态发生蛋白抑制物——Norrin，似乎储存在卵母细胞的动物极，它的作用是阻断背部外胚层的骨形态发生蛋白（Xu et al. 2015）。

头蛋白　在 1992 年，Smith 和 Harland 利用背部化（被氯化锂处理）的原肠胚构建了一个 cDNA 质粒文库。将这个文库分成很多组后，从每一组质粒中合成的信使 RNA 被分别注射到经紫外线照射的腹部化（没有神经管）胚胎中。能够拯救背部结构的 mRNA 所对应的那组质粒被进一步分成一些更小的组分，依此类推，直到分离出单个的质粒克隆，并且从这个质粒合成的 mRNA 能恢复腹部化胚胎中的背部组织。其中一个克隆是编码头蛋白的基因（图 11.22A）。将头蛋白的 mRNA 注射到 1 细胞后，被紫外线照射的腹部化胚胎完全恢复了背部发育，形成了一个完整的胚胎。

头蛋白是一个分泌蛋白，能够行使组织者的两个主要功能：诱导背部外胚层形成神经组织；使腹部

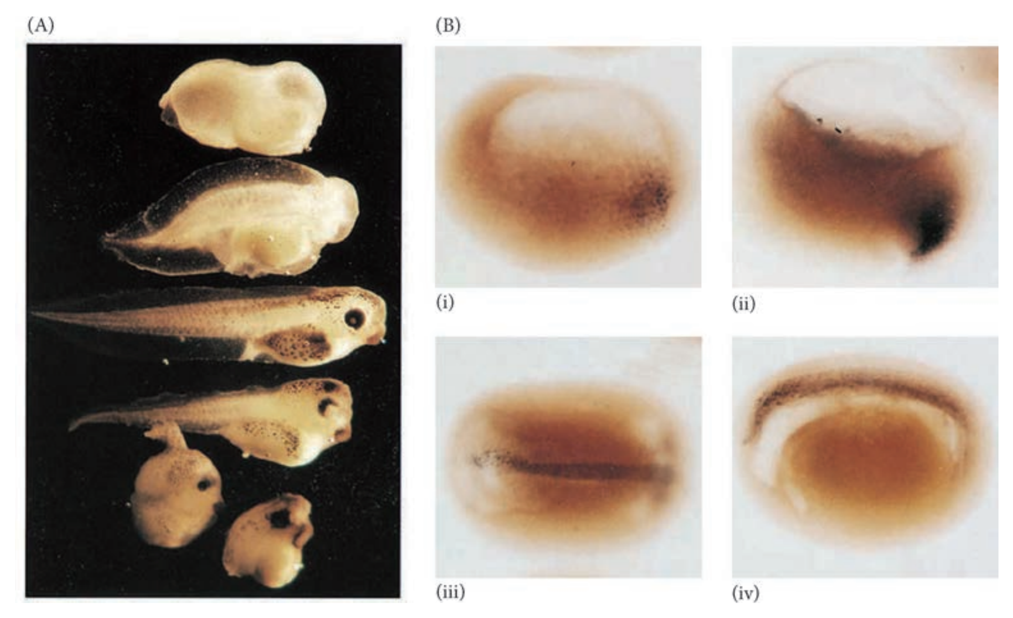


图 11.22 可溶性的头蛋白使两栖类胚胎背部化。(A) 头蛋白拯救背部结构。非洲爪蛙卵被紫外线照射后不能发生皮质旋转，因而胚胎缺失背部结构（上部）。如果将头蛋白的 mRNA 注射到这样的胚胎，它们将会以剂量相关的方式发育出背部结构（从上到下）。如果注射的剂量很高，胚胎以腹部和后部组织为代价产生背前部组织，几乎只变成一个头部（下部）。(B) 原位杂交显示头蛋白的mRNA特异地定位于组织者。在原肠胚形成开始时 (i)，头蛋白的mRNA（暗区域）集中在背部边缘区。当细胞内卷时 (ii)，头蛋白的 mRNA 位于背胚孔唇。在集中延伸过程中 (iii)，头蛋白的 mRNA 表达在脊索、索前板及咽内胚层的前体，这些细胞 (iv) 在位于胚胎中间的外胚层下部延伸（由 R. M. Harland 提供）。

中胚层细胞背部化 (Smith et al. 1993)。Smith 和 Harland 的研究结果显示，头蛋白的 mRNA 在刚被转录时首先定位于背胚孔唇区域，而后在脊索中表达（图 11.22B）。头蛋白与 BMP2 及 BMP4 结合，因此阻止它们与受体结合 (Zimmerman et al. 1996)。

Chordin 蛋白 编码 Chordin 蛋白的 cDNA 是从背部化而不是腹部化胚胎的 mRNA 中分离出来的 (Sasai et al. 1994)。从这些 cDNA 克隆合成 mRNA 后，将 mRNA 注射到腹部卵裂球，以观察它们是否能够诱导第二个体轴。其中一个能够诱导第二神经管的克隆含有 *chordin* 基因，它的 mRNA 定位于背胚孔唇，然后在脊索中表达（图 11.23）。利用吗啉反义寡聚物抑制 *chordin* 信使将会导致组织者移植物失去诱导第二个中枢神经系统的能力 (Oelgeschläger et al. 2003)。在所有已发现的组织者基因中，*chordin* 是被 β- 联蛋白激活程度最高的基因 (Wessely et al. 2004)。与头蛋白类似，Chordin 蛋白与 BMP2 及 BMP4 直接结合，阻止它们与受体形成复合物 (Piccolo et al. 1996)。

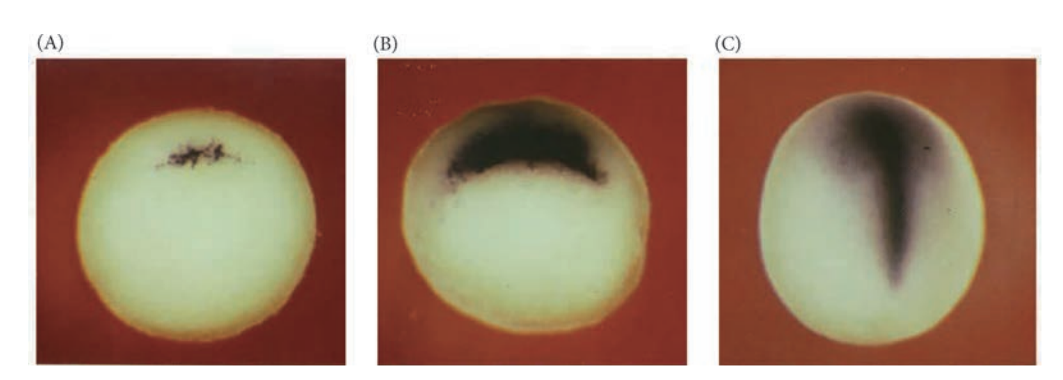


图 11.23 *chordin* 的 mRNA 的定位。(A) 整体原位杂交显示，在原肠胚形成开始前不久，*chordin* 的 mRNA（暗区域）在将要成为背胚孔唇的区域表达。(B) 原肠胚形成开始时，*chordin* 的 mRNA 在背胚孔唇处表达。(C) 在原肠胚形成晚期，*chordin* 的 mRNA 在组织者中表达（来自 Sasai et al. 1994，由 E. De Robertis 提供）。

促卵泡激素抑释素　组织者分泌的第三个蛋白质——促卵泡激素抑释素的 mRNA 也在背胚孔唇和脊索的位置转录。促卵泡激素抑释素是在为其他目的所设计的实验中被意外地发现于组织者。当时，Ali Hemmati-Brivanlou 和 Douglas Melton（1992，1994）想确定激活蛋白是否对中胚层诱导是必需的。在寻找中胚层诱导因子时，他们发现了促卵泡激素抑释素，这是激活蛋白和骨形态发生蛋白的抑制物，能使外胚层变成神经组织。因此他们推测，在正常状况下，除非外胚层被骨形态发生蛋白诱导为表皮组织，否则它将变成神经组织。这一模型被一些细胞离散实验所支持和解释，但这些实验也产生了一些奇怪的结果。Grunz 和 Tacke、Sato 和 Sargent、Godsave 和 Slack 在 1989 年的三个研究结果都显示，当整个胚胎或者动物帽的细胞被离散时，它们会形成神经组织。如果外胚层的“默认状态”不是表皮而是神经，表皮表型必须被诱导才能产生，那么这一结果就易于理解。因此，我们可以推断组织者通过失活骨形态发生蛋白而阻断表皮化诱导。

外胚层的偏向性　脊索上部的外胚层似乎被延伸至卵外围的 β- 联蛋白影响，倾向于变成神经外胚层。这使 Siamois 和 Twin 蛋白在将要成为神经外胚层的细胞中表达。在这里，这些转录因子行使两个关键的功能。首先，它们激活那些使这些细胞成为神经外胚层的基因（如 *Foxd4* 和 *Sox11*；**图 11.24**）。然而，这些基因可能会被骨形态发生蛋白抑制，因此，作为原肠胚形成过程的第二步，组织者的中胚层产生一些阻断骨形态发生蛋白信号接触外胚层的蛋白质（Klein and Moody 2015）。

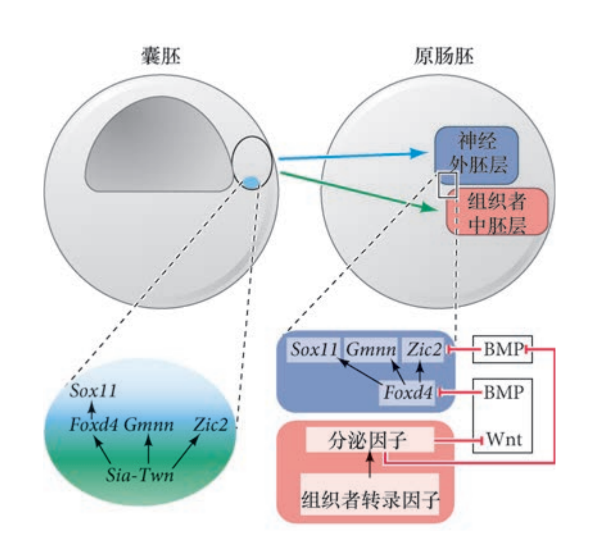


图 11.24　Siamois（Sia）和 Twin（Twn）诱导神经上皮基因激活的示意图。在囊胚期，预期产生组织者中胚层和神经外胚层的细胞表达 *sia* 和 *twn*。它们激活神经外胚层基因 *Foxd4*、*Gmnn* 和 *Zic2*。这些基因编码的转录因子将激活其他神经基因，如 *Sox11*。在原肠胚形成过程中，这些细胞的后代已经变成组织者中胚层和神经外胚层。这时，抑制骨形态发生蛋白（BMP）和 Wnt 信号途径的组织者分泌因子上调神经上皮基因。如果骨形态发生蛋白和 Wnt 没有被抑制，*Sox11*、*Gmnn*、*Foxd4* 和 *Zic2* 的转录将会下降（参考 Klein and Moody 2015）。

在 2005 年，两组重要的实验证实了抑制骨形态发生蛋白对特化神经系统的重要性。第一，Khokha 及其同事（2005）利用吗啉反义寡核苷酸在非洲爪蛙中敲减了三个骨形态发生蛋白的拮抗剂（头蛋白、Chordin 和促卵泡激素抑释素），这使胚胎出现严重的背部发育缺陷，并缺失神经板和背部中胚层（**图 11.25A，B**）。第二，Reversade 及其同事利用吗啉反义寡核苷酸抑制骨形态发生蛋白的活性（Reversade et al. 2005；Reversade and De Robertis 2005）。如果同时阻断 BMP2、4、7，神经管便极大地扩张，占据了外胚层的大部分区域（**图 11.25C**）。如果同时抑制这三个骨形态发生蛋白及抗背部化形态发生蛋白（ADMP，骨形态发生蛋白家族的另一个蛋白质），整个外胚层都变成神经外胚层（**图 11.25D**）。因此，表皮受形态发生蛋白信号途径的指令，而组织者通过阻断骨形态发生蛋白信号到达相邻的外胚层，将其上部的外胚层特化成神经组织。

如果没有骨形态发生蛋白信号，转录因子 Foxd4 在预定神经外胚层表达。它启动一个途径，在大多数被诱导的外胚层细胞使神经特性得以稳定，而使其他被诱导的细胞产生一种未成熟和干细胞样的状态（见 Rogers et al. 2009；Klein and Moody 2015）。

更为显著的是，骨形态发生蛋白诱导皮肤外胚层和骨形态发生蛋白拮抗剂特化神经外胚层的能

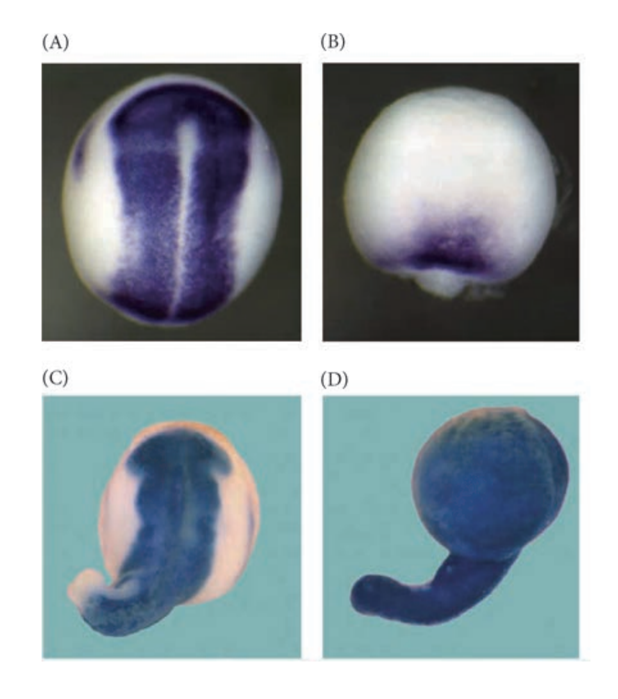


图 11.25 骨形态发生蛋白（BMP）的水平控制神经特化。（A，B）形态发生蛋白抑制物的基因（*chordin*、头蛋白、促卵泡激素抑释素）被吗啉反义寡核苷酸敲减后非洲爪蛙胚胎缺失背部结构。（A）对照胚胎的神经褶显示神经基因 *Sox2* 的表达。（B）用吗啉反义寡核苷酸敲减三个骨形态发生蛋白抑制物的基因时，胚胎缺失神经管和 *Sox2* 的表达。（C，D）扩张的神经发育。（C）用吗啉寡核苷酸同时敲减 BMP2、4、7，胚胎中被 *Sox2* 染色的神经管显著增大。（D）在抗背部化形态发生蛋白（ADMP）以及 BMP2、4、7 同时受到抑制的胚胎中，整个外胚层被完全转变为神经外胚层，并缺失背 - 腹轴（A 图和 B 图来自 Khokha et al. 2005，由 R. Harland 提供；C 图和 D 图来自 Reversade and De Robertis 2005）。

力存在于在整个动物界。在果蝇中，骨形态发生蛋白的同源物 Decapentaplegic（Dpp）特化下皮（皮肤），而骨形态发生蛋白的拮抗剂 Short gastrulation（Sog）阻断 Dpp 的作用并特化神经系统。Sog 是 Chrodin 的同源物。这些昆虫的同源物不仅与它们的脊椎动物对应物相似，而且它们也可以相互替代。如果把 *Sog* 的 mRNA 注射到非洲爪蛙胚胎的腹部，它能诱导两栖类的脊索和神经管；把 *Chrodin* 的 mRNA 注射到果蝇的胚胎，能产生腹部神经组织。尽管 Chordin 使非洲爪蛙胚胎背部化，它在果蝇中使胚胎腹部化。在果蝇中，Dpp 表达在背部；而在非洲爪蛙中，骨形态发生蛋白表达在腹部。在这两种情况下，Sog/Chordin 通过阻断 Dpp/BMP4 的作用而参与神经组织的特化（Hawley et al. 1995；Holley et al. 1995；De Robertis et al. 2000；Bier and De Robertis 2015）。因此，节肢动物似乎是背腹颠倒的脊椎动物。19 世纪 40 年代，法国解剖学家 Geoffroy Saint-Hilaire 在试图使其他解剖学家相信动物界的统一性时指出了这一事实（见 Appel 1987；Genikhovich et al. 2015；De Robertis and Moriyama 2016）。


科学家讲座 11.2 Richard Harland 博士讨论非洲爪蛙的原肠胚形成和神经诱导。

11.1.6 神经诱导沿前 - 后轴的区域特异性

恰如背 - 腹轴在整个动物界都建立在骨形态发生蛋白及其抑制物的基础上（神经区域是骨形态发生蛋白水平最低的位置），前 - 后轴的特化建立在 Wnt 蛋白梯度的基础上，头部的 Wnt 蛋白浓度最低（Petersen and Reddien 2009）。也有少数例外（如果蝇），Wnt 梯度并不提供主要的图式形成信息；但即使在这些情形下，仍可看到 Wnt 的残留图式（Vorwald-Denholtz and De Robertis 2011）。

在脊椎动物中，沿前 - 后轴出现的一个最重要的现象是神经结构的区域特异性。神经管的前脑、中脑和脊尾部区域必须在前 - 后轴方向上被正确地组织起来。组织者不仅诱导神经管，而且也特化神经管的不同区域。Hilde Mangold 的丈夫 Otto Mangold 在 1933 年显示了这种区域特异性的诱导。他将蝾螈晚期原肠胚的原肠腔顶的四个连续区域分别移植到早期原肠胚的囊胚腔中。原肠腔顶的最前端（含有头部中胚层）诱导平衡器和一部分口器；紧接着最前端的部分诱导各种头部结构的形成，包括鼻、眼、平衡

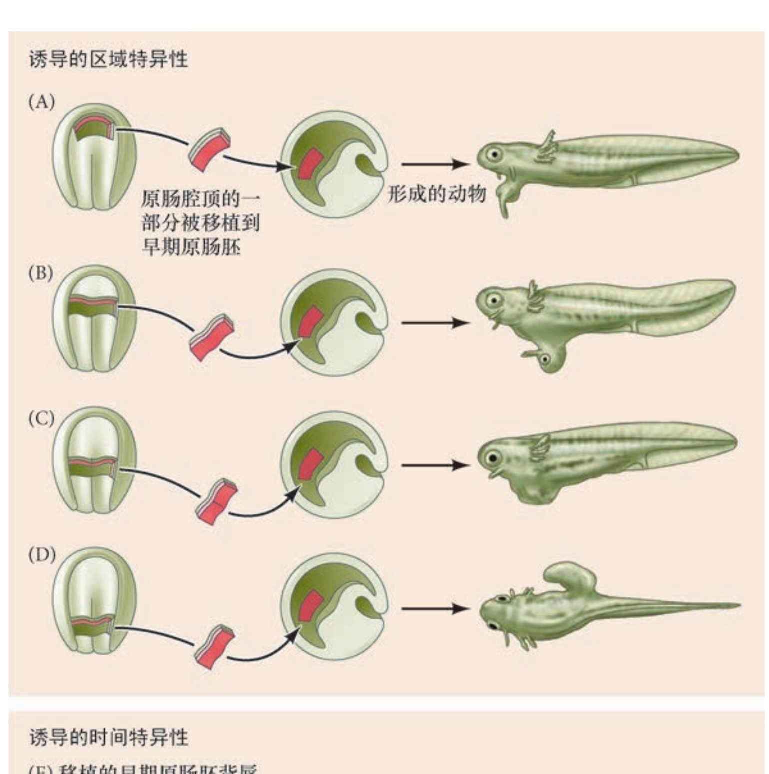
器及听泡；第三个部分（包括脊索）诱导后脑结构；而最后端的部分诱导背部躯干和尾部中胚层的形成[5]（图 11.26A ～ D）。

在进一步的实验中，Mangold 的研究显示，如果把蝾螈早期原肠胚的背胚孔唇移植到另一个早期的原肠胚，它诱导形成第二个头部。然而，如果把晚期原肠胚的背胚孔唇移植到早期原肠胚，它则诱导第二个尾部的形成（图 11.26E，F；Mangold 1933）。这些结果说明，早期进入胚胎的组织者细胞诱导脑和头部的形成，而晚期胚胎的背唇细胞诱导其上面的细胞形成脊髓和尾部。

这样就产生了一个问题：组织者以区域性的方式分泌了一些什么分子，使得最先通过胚孔唇（内中胚层）内卷的细胞诱导头部结构，而后来内卷的中胚层（脊索）诱导躯干和尾部结构？图 11.27 显示了这些诱导的一个可能的模型，我们现在将详细描述其中的要素。

11.1.6.1　头部诱导物：Wnt 拮抗剂

头部和脑最前端区域的下部不是脊索，而是咽内胚层和头部（索前）中胚层（见图 11.4C，D 和



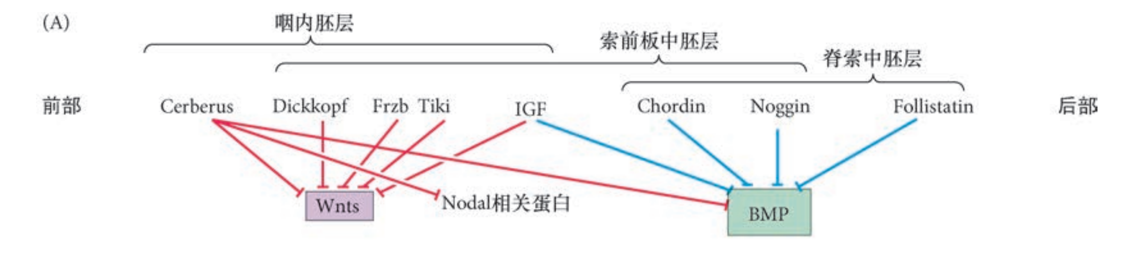
拓展性问题

在果蝇与脊椎动物之间，Chordin 和骨形态发生蛋白似乎是同源的，但 Chordin 和骨形态发生蛋白的处理途径是否也是同源的？ Chordin- 骨形态发生蛋白这个轴线如何调节胚胎的体轴，使得胚胎在更小或者更大的情况下总是产生相同的图式？

图 11.26　诱导的区域和时间特异性。(A ～ D) 把原肠腔顶的不同部分（红色）移植到 *Triturus* 的早期原肠胚显示出诱导的区域特异性。受体胚胎发育出第二个背部结构。(A) 具有平衡器的头部。(B) 具有平衡器、眼和前脑的头部。(C) 头的后部、间脑和听泡。(D) 躯干和尾部。(E，F) 诱导能力的时间特异性。(E) 如果把早期背唇（将形成组织者的前部）移植到蝾螈的早期原肠胚，它将诱导前部的背部结构。(F) 如果把晚期背唇移植到蝾螈的早期原肠胚，它将诱导更后部的背部结构 (A ～ D 图参考 Mangold 1933；E 图和 F 图参考 Saxén and Toivonen 1962)。

---

[5] 脊索后端能够诱导背部中胚层而不是神经系统的背部外胚层已被 Bijtel (1931) 和 Spofford (1945) 证实。他们的研究结果显示神经板的后 1/5 部分形成尾部体节及原肾管的后部。



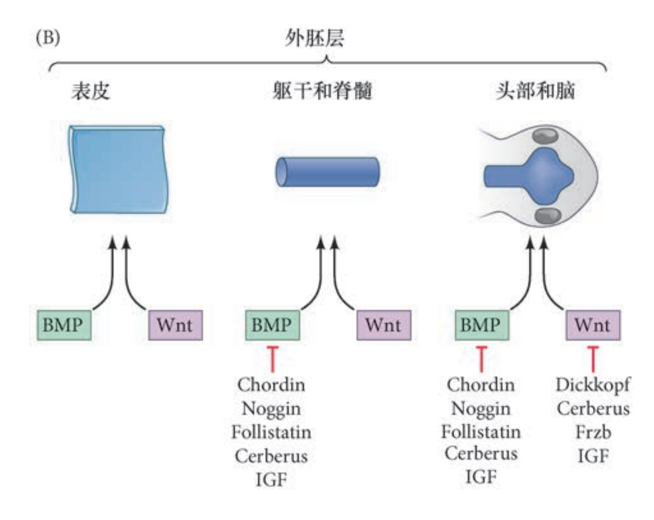


图 11.27 来自组织者的旁分泌因子拮抗剂阻断特定的旁分泌因子以区分头部和尾部。(A) 头部下面的咽内胚层分泌 Dickkopf、Frzb 和 Cerberus。Dickkopf 和 Frzb 抑制 Wnt 蛋白；Cerberus 抑制 Wnt、Nodal 相关蛋白及骨形态发生蛋白(BMP)。索前板分泌 Wnt 抑制物 Dickkopf、Frzb，以及骨形态发生蛋白抑制物 Chordin 和头蛋白 (Noggin)。脊索含有骨形态发生蛋白抑制物 Chordin、头蛋白和促卵泡激素抑释素(Follistatin)，但不分泌 Wnt 抑制物。来自头部内中胚层的胰岛素样生长因子 (IGF) 可能在脊索和索前中胚层的交界处发挥作用。(B) 旁分泌因子拮抗剂在外胚层中的功能。脑的形成需要抑制 Wnt 和骨形态发生蛋白途径。Wnt 在没有骨形态发生蛋白的情况下发挥作用，产生脊髓神经元。Wnt 和骨形态发生蛋白信号途径都发挥作用时，形成表皮。

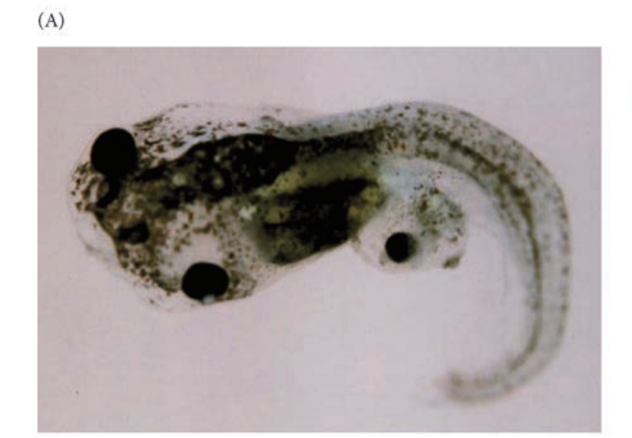
11.27A)。这一内中胚层组织构成了背胚孔唇的前缘。最近的研究显示，这些细胞不仅诱导最前部的头部结构，它们也通过阻断 Wnt 和骨形态发生蛋白这两个信号途径而行使这个功能。Wnt 拮抗剂似乎受应答植物极细胞分泌的 Nodal 和 Vg1 信号而产生的高水平磷酸化 Smad2 所诱导 (Agius et al. 2000；Bisroy et al. 2006)。

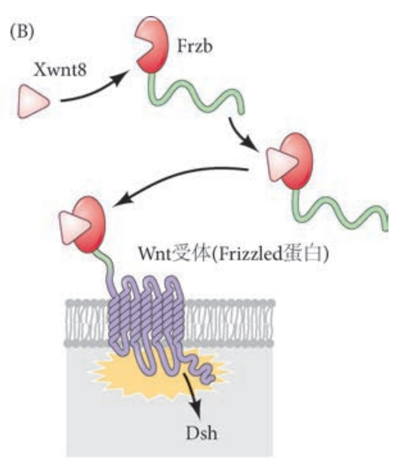
Cerberus：一个促进头部形成的全能旁分泌抑制物 躯干结构的诱导可能是由于阻断脊索的骨形态发生蛋白信号而产生的，但 Wnt 信号却在这个过程中发挥作用。然而，如果要形成头部的话，骨形态发生蛋白和 Wnt 这两个信号途径都必须被阻断。Wnt 信号途径的阻断来自内中胚层，也就是组织者的最前部 (Glinka et al. 1997)。1996 年，Bouwmeester 及其同事的研究显示，头部最前端结构的诱导能通过一个称为 Cerberus（以希腊神话中把守冥府入口的三头犬的名称而命名）的分泌蛋白来实现。将 *Cerberus* 的 mRNA 注射到非洲爪蛙 32 细胞期胚胎的一个腹部植物极卵裂球中能产生异位的头部结构（**图 11.28A**）。这些头部结构既来自被注射的细胞，也来自相邻的细胞。

Cerberus 基因表达在咽内中胚层细胞，这些细胞来自早期背唇的深层细胞。Cerberus 蛋白能结合骨形态发生蛋白、Nodal 相关蛋白及 Xwnt8 蛋白（见图 11.27A 和图 11.30；Piccolo et al. 1999）。如果抑制 Cerberus 的合成，胚胎前部的骨形态发生蛋白、Nodal 相关蛋白及 Wnt 的水平都会升高，前部内中胚层诱导头部的能力严重降低 (Silva et al. 2003)。

Frzb、Dockkopf、Notum 和 Tiki：更多抑制 Wnt 的方式 在 Cerberus 的特征被证明后不久，另外两个蛋白质——Frzb 和 Dickkopf，也被发现表达在内卷的内中胚层。Frzb（读音“frisbee”）是 Frizzled(Wnt 受体）的一个小的分泌形式，能够在溶液中结合 Wnt 蛋白（**图 11.28B，C**；Leyns et al. 1997；Wang et al. 1997）。Frzb 主要在未来脑部下方的内中胚层细胞中合成（**图 11.28D**）。如果使胚胎合成过多的 Frzb，在整个胚胎中都没有 Wnt 信号；这样的胚胎缺失腹部和后部结构，只形成头部组织。Dickkopf（德语：“大脑袋”、“固执”）蛋白与 Wnt 受体直接结合，从而阻断 Wnt 信号 (Mao et al. 2001，2002)。注射 Dickkopf 的抗体导致胚胎形成小和没有前脑的畸形头部 (Glinka et al. 1998)。

最近发现其他两个组织者蛋白——Tiki 和 Notum，在原肠胚形成过程中与 Wnt 蛋白结合。Tiki 不仅





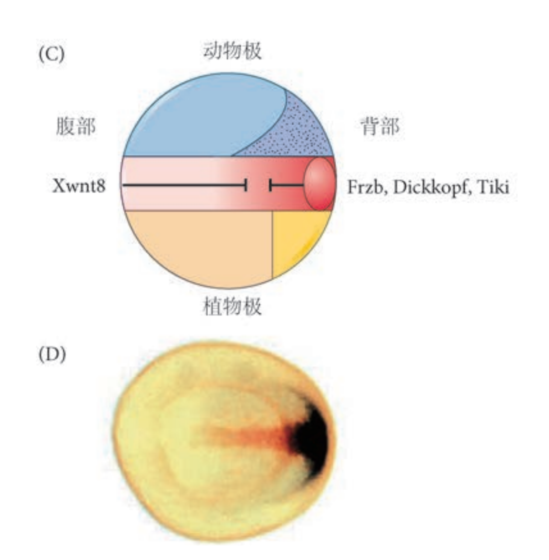


图 11.28　抑制 Wnt 信号途径使头部形成。(A) 将 *cerberus* 的 mRNA 注射到非洲爪蛙 32 细胞期胚胎的单个 D4(腹部植物极) 卵裂球能诱导头部结构，以及双生的心脏和肝。次级的眼 (单个独眼) 和嗅板清晰可见。Xwnt8 能使中胚层腹部化，并阻止外胚层形成前端头部结构。(B) Frzb 蛋白由组织者的前部区域分泌。它必须在 Xwnt8 与其受体结合之前先行与 Xwnt8 结合。Frzb 与 Wnt 受体 (Frizzled 蛋白) 上的 Wnt 结合域相似，但它是一个可溶性分子。(C) Xwnt8 表达在整个边缘区。(D) 双色原位杂交定位 *Frzb*(黑色) 和 Chordin(红色) 的信使。*Frzb* 的 mRNA 在组织者的头部内中胚层转录，但在脊索 (*chordin* 表达的位置) 中不表达 (A 图来自 Bouwmeester et al. 1996；D 图来自 Leyns et al. 1997；照片由 E. M. De Robertis 提供)。

阻止 Wnt 与它们的受体结合，还能切割 Wnt 蛋白，使其失去功能。Tiki 主要在组织者的前部区域合成，而且对非洲爪蛙的头部形成至关重要 (Zhang et al. 2012)。此外，为了防止 Wnt 阻碍发育，外胚层自身还产生一个绑定在细胞膜上的 Wnt 抑制物 Notum，它能去除 Wnt 蛋白上的脂质部分，而这个脂质部分能阻止 Wnt 形成无活性二聚体 (Zhang et al. 2015)。

胰岛素样生长因子和成纤维细胞生长因子　上述所有的 Wnt 抑制物都是一些细胞外蛋白。此外，头部区域还表达其他一些能够阻止骨形态发生蛋白和 Wnt 信号进入细胞核的蛋白质。**成纤维细胞生长因子** (**fibroblast growth factor**，**FGF**) 和**胰岛素样生长因子** (**insulin-like growth factors**，**IGF**) 对脑和感觉基板的诱导也是必需的 (Pera et al. 2001，2013)。IGF 和 FGF 在胚胎前部区域的作用尤为突出，它们都起始受体酪氨酸激酶 (RTK) 信号转导级联 (见第 4 章)。酪氨酸激酶干扰骨形态发生蛋白和 Wnt 信号转导途径 (Richard-Parpaillon et al. 2002；Pera et al. 2013)。如果把 IGF 的 mRNA 注射到腹部中胚层的卵裂球，它能够引起头部的异位发生，而在前部阻断 IGF 受体导致头部形成的缺失。

11.1.6.2　躯干的图式化：Wnt 信号和视黄酸

Toivonen 和 Saxén 证明，一个后部化因子的梯度能特化两栖类胚胎的躯干和尾部组织[6] (Toivonen and Saxén 1955，1968；见 Saxén 2001 综述)。这个因子的活性在胚胎的后部应该最强，在前部变弱。最近

[6] 因为将晚期背胚孔唇移植到囊胚腔中常产生具有额外尾部的幼体，所以最初尾部诱导物被认为是躯干诱导物的一部分。然而，尾部似乎是神经板和后部中胚层在神经胚期通过相互作用而形成的 (因而是在组织者之外产生的)。在这里，Wnt、骨形态发生蛋白和 Nodal 信号似乎都是必需的 (Tucker and Slack 1995；Niehrs 2004)。有意思的是，如果要形成头部，这三个信号途径都必须受到抑制。

的研究拓展了这个模型，并且提出一些 Wnt 蛋白，尤其是 Wnt8，是后部化分子（Domingos et al. 2001；Kiecker and Niehrs 2001）。在非洲爪蛙中，一个内源的 Wnt 信号和 β- 联蛋白梯度在后部最高，在前部缺失（图 11.29A）。此外，如果在发育的胚胎中高表达 Xwnt8，脊髓状的神经元便会出现在胚胎的更前部区域，而前脑最前部的标记物消失。反过来，抑制 Wnt 信号途径（在发育的胚胎中高表达 Frzb 或者 Dickkopf）能使更后部的神经细胞表达最前部的标记物。因此，在两栖类原肠胚中似乎存在两个主要的梯度：一个特化背 - 腹轴的骨形态发生蛋白梯度和一个特化前 - 后轴的 Wnt 梯度（图 11.29B）。但必须记住的是，这两个轴都建立于 Nodal 样转化生长因子 -β 旁分泌因子和 β- 联蛋白在植物极细胞中最初形成的轴向。因此，神经诱导的基本模型与图 11.30 中的示意图相似。

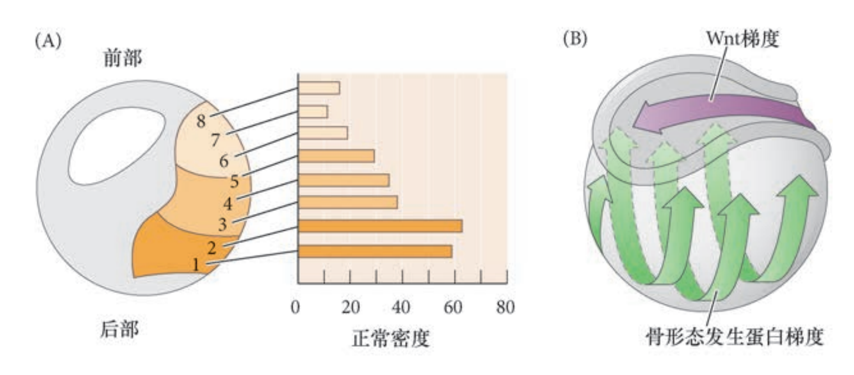


图 11.29 信号梯度和体轴特化。(A) Wnt 信号途径使神经管后部化。原肠胚形成过程中的胚胎被 β- 联蛋白染色后，在外胚层的不同区域比较染色密度，显示预定神经板中 β- 联蛋白的梯度。(B) Wnt 梯度特化后 - 前极性，而骨形态发生蛋白梯度特化背 - 腹极性。这种最先在两栖类中发现的双梯度相互作用现在已被证明是动物发育的特征（参考 Saxén and Toivonen 1962；Kiecker and Niehrs 2001；Niehrs 2004）。

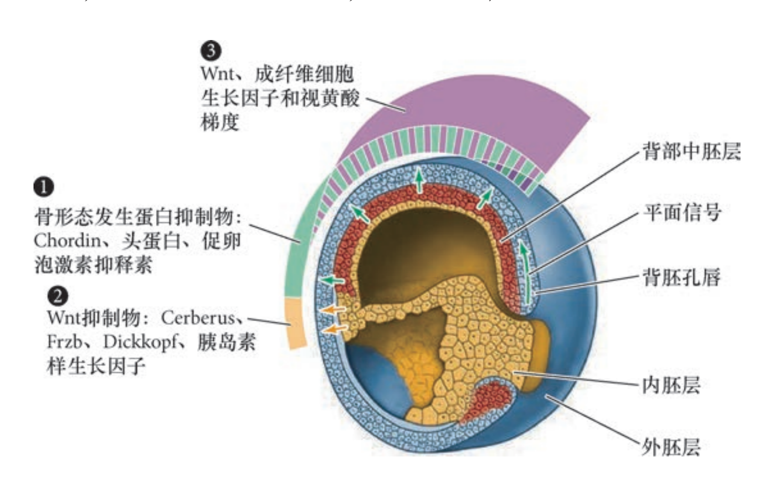


图 11.30 非洲爪蛙原肠胚中组织者功能和体轴特化的模型。①来自组织者（背部中胚层和咽内中胚层）的骨形态发生蛋白抑制物阻止表皮、腹部中胚层和腹部内胚层的形成。②来自组织者前部（咽内中胚层）的 Wnt 抑制物促使头部结构的诱导。③尾部化因子（Wnt、成纤维细胞生长因子和视黄酸）的梯度导致同源异形基因的区域性表达，以特化神经管的不同区域。

科学家讲座 11.3 Lauri Saxén 博士讨论初级组织者的早期研究和双梯度假说的构想。

虽然 Wnt 蛋白对前 - 后轴的特化有主要的作用，但它们可能并不是这个过程中的唯一因素。成纤维细胞生长因子对细胞应答 Wnt 信号似乎也有至关重要的作用（Holowacz and Sokol 1999；Domingos et al. 2001）。视黄酸也具有一个在神经板后端浓度最高的梯度，并且能以浓度依赖的方式“后部化”神经管（Cho and De Robertis 1990；Sive and Cheng 1991；Chen et al. 1994；Pera et al. 2013）。视黄酸信号途径似乎对后脑的图式化尤其重要，因为它与成纤维细胞生长因子信号的相互作用能激活后部同源异形基因（Kolm et al. 1997；Dupé and Lumsden 2001；Shiotsugu et al. 2004）。视黄酸对蝌蚪的最后部，也就是尾部的生长至关重要。它的受体是一些转录因子，在没有视黄酸结合的状态下，这些受体与抑制一些基因活性的辅阻遏物结合。然而，视黄酸与受体结合时，辅阻遏物被交换成辅激活物，这些基因便开始活

跃地转录（Chakravarti et al. 1996）。在发育的蝌蚪尾芽中，未被结合的视黄酸受体维持一组未分化的尾部中胚层细胞。当视黄酸合成的波峰向后延伸时，视黄酸与这些受体结合，而后这些细胞表达后部同源异形基因并分化为体细胞组织，使尾部生长（Janesick et al. 2014）。总之，从后到前的 Wnt、成纤维细胞生长因子和视黄酸梯度沿前 - 后轴方向决定同源异形基因的表达边界（Wacker et al. 2004；Durston et al. 2010a，b）。

网络话题 11.4 **梯度和同源异形基因的表达**　目前对 Wnt、视黄酸和成纤维细胞生长梯度在神经外胚层中特化同源异形基因表达的机制还没有共识。

11.1.7　特化左 - 右轴

尽管发育中的蝌蚪从外部看上去是对称的，但几种内部器官，如心脏和肠管，在左、右两侧并不均衡。换句话说，除了背 - 腹轴和前 - 后轴之外，胚胎还具有一个左 - 右轴。在目前被研究的所有脊椎动物中，左 - 右轴形成的关键事件是一个 *nodal* 基因在胚胎左侧的侧板中胚层的表达。在非洲爪蛙，这个基因是 *Xnr1*（*Xenopus nodal-related 1*，非洲爪蛙 *nodal* 相关基因 -1）。如果 *Xnr1* 的表达被反转（也就是只在右侧），心脏的位置（通常在左侧）也被反转，肠的盘绕方向也一样。如果 *Xnr1* 在两侧都有表达，肠的盘绕方向和心脏的位置就会随机变化。

是什么机制将 *Xnr1* 的表达限制在左侧？在第 8 章，我们看到蜗牛的左 - 右图式化受控于 Pitx2 和 Nodal，并且被第一个卵裂周期中活跃的细胞骨架蛋白调节。在蛙中的情形也类似，Pitx2 和 Nodal 似乎受细胞骨架的调节。在蛙中，细胞骨架（尤其是微管的微管蛋白）参与左 - 右图式的形成。在非洲爪蛙胚胎的第一次卵裂期间，一些与微管相联结的蛋白质对母体产物在未来左侧和右侧细胞中的不均匀分布起关键作用（Lobikin et al. 2012）。蛙中的微管蛋白基因突变后导致偏侧化缺陷（在线虫中也是这样），而注射显性失活的微管蛋白使心脏的位置和肠的卷曲方向随机化。

这种最初的偏侧化可能被组织者区域纤毛的顺时针方向旋转所增强。在非洲爪蛙，这些特定的纤毛在原肠胚形成的晚期（也就是在中胚层的初始特化之后）的背胚孔唇处形成（Schweickert et al. 2007；Blum et al. 2009）。这就是说，它们位于胚胎的后部区域，处在原肠腔仍在形成的位置。如果抑制这些纤毛的旋转，*Xnr1* 便不能在中胚层表达，这样就会产生偏侧化缺陷（Walentek et al. 2013）。

被 Xnr1 蛋白激活的关键基因之一编码转录因子 Pitx2，在正常情况下它仅表达在胚胎的左侧。在心脏和肠的发育过程中，Pitx2 一直在左侧表达，以控制这些器官的位置。如果将 Pitx2 注射到胚胎的右侧，它就会在那里表达，使心脏的位置和肠的盘绕方向发生随机变化（**图 11.31**；Ryan et al. 1998）。我们将会看到，Nodal 蛋白通过激活 Pitx2 来建立左 - 右极性的途径在所有脊椎动物中都是保守的。

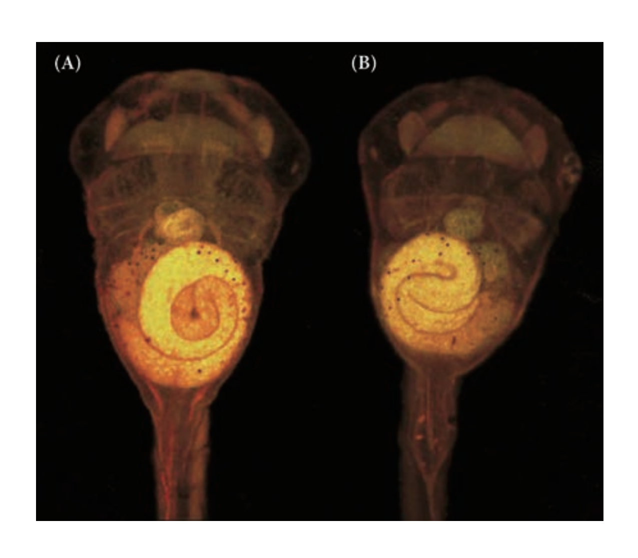


图 11.31　Pitx2 决定心脏环化和肠盘绕的方向。（A）一个野生型非洲爪蛙蝌蚪的腹面观，显示心脏向右环化和肠的逆时针盘绕。（B）如果将 Pitx2 注射到胚胎，使它表达在左右两侧的中胚层（而不是只在左侧），心脏环化和肠盘绕的方向将出现随机化。这种实验有时会导致完全的逆转，就像图中这个胚胎，心脏向左环化，而肠以顺时针方向盘绕（来自 Ryan et al. 1998，由 J. C. Izpisúa-Belmonte 提供）。

11.2 斑马鱼的早期发育

近些年来，硬骨鱼类 *Danio rerio*，通常称为斑马鱼，像非洲爪蛙一样成为一个被广泛研究的脊椎动物发育模式（见图 11.1B）。尽管它们的卵裂方式不同（非洲爪蛙的卵是完全卵裂，整个卵完全分开；而富含卵黄的斑马鱼卵是不完全卵裂，富含卵黄的细胞质仅有一小部分形成细胞），但非洲爪蛙和斑马鱼以非常相似的方式形成它们的体轴。

斑马鱼的产卵量高、可全年繁殖、易于饲养、胚胎透明、在母体外发育（对显微观察来说这是一个重要的特性），并且在实验室中很容易发现和繁衍突变体品系。此外，这种鱼的发育迅速，在受精后的 24 h 内，多数器官原基已经在胚胎内形成，胚胎显示出蝌蚪的形状（**图 11.32**；Granato and Nüsslein-Volhard 1996；Langeland and Kimmel 1997）。不仅如此，人们还能将荧光染料注射到单个卵裂球，以及制备一些在特定细胞类型中驱动荧光蛋白表达的转基因，这使科学家们能在一个器官的发育过程中跟踪单个活细胞。

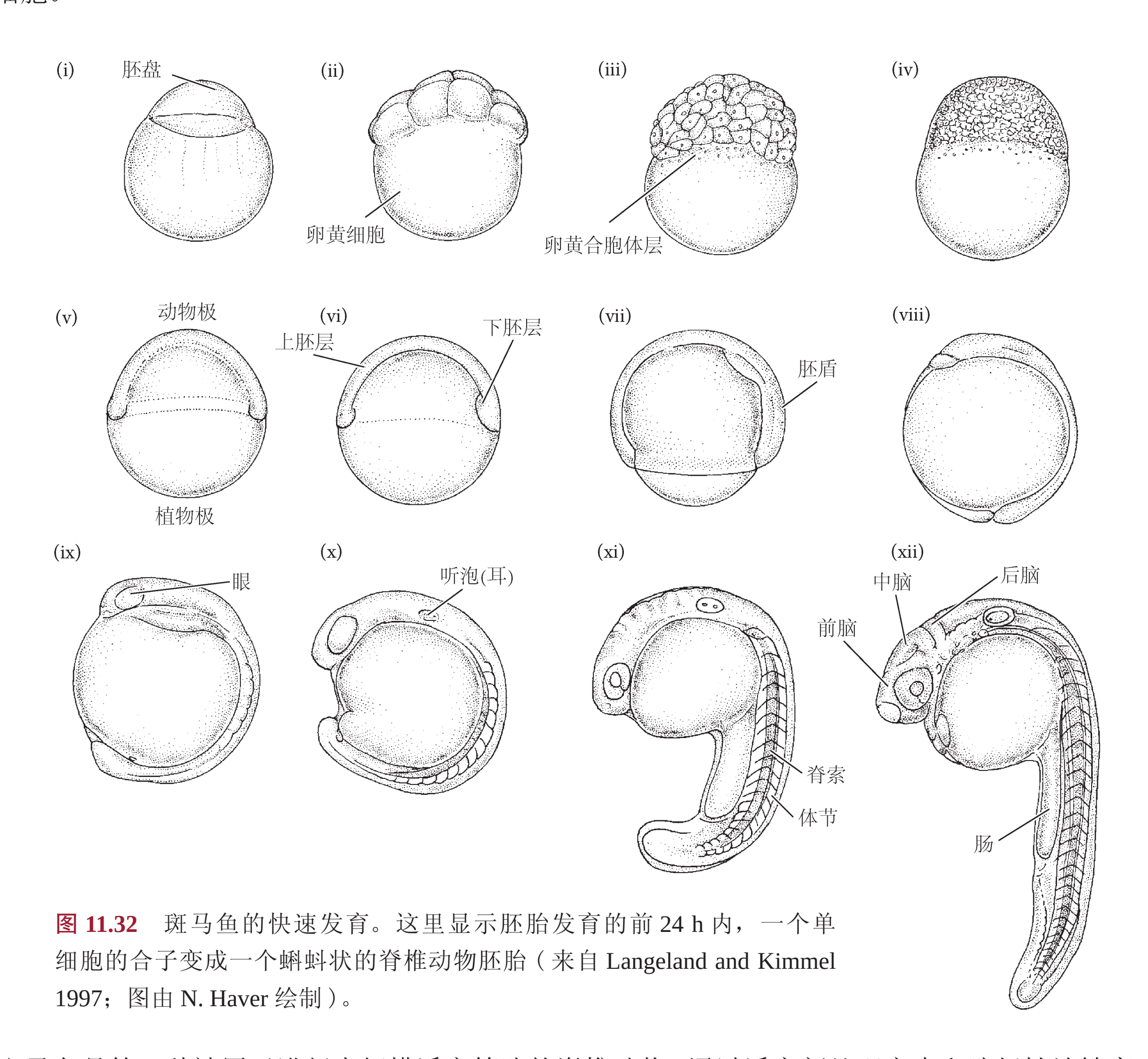


图 11.32 斑马鱼的快速发育。这里显示胚胎发育的前 24 h 内，一个单细胞的合子变成一个蝌蚪状的脊椎动物胚胎（来自 Langeland and Kimmel 1997；图由 N. Haver 绘制）。

斑马鱼是第一种被用于进行大规模诱变筛选的脊椎动物。通过诱变剂处理亲本和选择性地繁育后代，科学家们已经发现了几千种突变，而这些突变所对应的正常基因在发育过程中都具有关键的作用。传统的遗传筛选方式（仿照果蝇的大规模筛选）首先是用化学诱变剂处理雄性亲本，使生殖细胞产生随机突变。每个产生突变的雄鱼与野生型雌鱼交配后产生 F_1 代鱼。F_1 代个体中携带一些遗传自父本的突变。如果突变是显性的，它将在 F_1 代中表现出来；如果突变是隐性的，F_1 代的鱼将不显示突变表型，因为野生型的

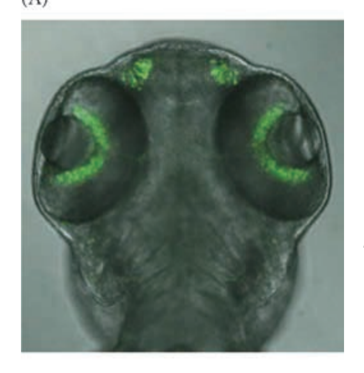
显性等位基因掩盖了突变。而后，F_1 代的鱼与野生型鱼交配，这样产生的 F_2 代鱼包括携带突变等位基因的雄性和雌性。当两个 F_2 亲本携带相同的隐性突变时，在它们的后代中将会有 25% 的概率出现突变表型（图 11.33）。由于斑马鱼的发育处在开放空间（而不是在不透明的壳或者在母体中），发育的异常可以很容易地在体外随时进行观察，而且发育的缺陷通常可以追溯到某一特定细胞群体的变化（Driever et al. 1996；Haffter et al. 1996）。最近，高通量的基因分析方法及 CRISPR 基因编辑技术极大地促进了斑马鱼发育的研究，使人们能够快速产生、鉴别和繁育一些特定基因的突变（见 Gonzales and Yeh 2014；Vashney et al. 2015）。

如同非洲爪蛙胚胎，斑马鱼胚胎也易于利用吗啉反义寡核苷酸进行实验（Zhong et al. 2001），研究人员可以使用这一手段来检测某一特定基因是否行使某一特定的发育功能。此外，绿色荧光蛋白（GFP）报道基因与特定的斑马鱼启动子及增强子融合后可被插入到基因组。在转基因鱼中，GFP 表达的时间和位置与这些调控序列所控制的内源蛋白相一致。能在透明的活体胚胎中看到报道蛋白是一件令人惊奇的事情（图 11.34）。

所有脊椎动物发育机制的相似性及斑马鱼能被遗传操作的能力，使这种小鱼能被用于研究那些参与人类发育的基因（Mudbhary and Sadler 2011）。当发育生物学家筛选与人类囊性肾病相关的斑马鱼

图 11.33　斑马鱼发育突变的筛选方案。雄性亲本被诱变，与野生型（+/+）雌性交配。如果雄性的一些精子中携带一个隐性突变等位基因（*m*），一些 F_1 代个体将获得这一等位基因。然后，F_1 代个体［这里显示的是一个携带突变等位基因（*m*）的雄性］与野生型个体交配后产生 F_2 代，其中的一些雄性和一些雌性个体携带隐性突变等位基因。当 F_2 代鱼之间进行交配时，它们后代中大约有 25% 的个体将会表现出突变表型（参考 Haffter et al. 1996）。

(A)



(B)

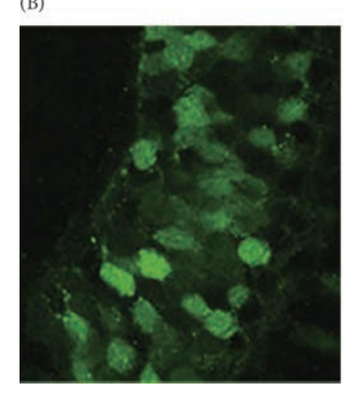


图 11.34　绿色荧光蛋白（GFP）的基因与斑马鱼 *sonic hedgehog* 基因的调节区相融合。在转基因斑马鱼胚胎中，凡是正常表达 Hedgehog 蛋白的位置都有 GFP 的合成。（A）在头部，GFP 表达在发育中的视网膜和鼻基板。（B）由于 GFP 表达在一些独立的细胞，因此科学家们可以精确地观察哪些细胞产生了 GFP，由此可以判断哪些细胞正常地转录他们所感兴趣的基因（这里显示了视网膜中的 *sonic hedgehog*）（照片由 U. Strahle 和 C. Neumann 提供）。

突变体时，他们发现了12个不同的基因。其中2个是已知的能够导致人类囊性肾病的基因，另外10个尚且未知的基因在一个共同途径中与前两个基因相互作用。而且，与最初的预期不同，这个途径参与纤毛的形成。因此，斑马鱼的研究揭示了一个重要和前所未知的途径，能被用以探索人类的出生缺陷（Sun et al. 2004）。

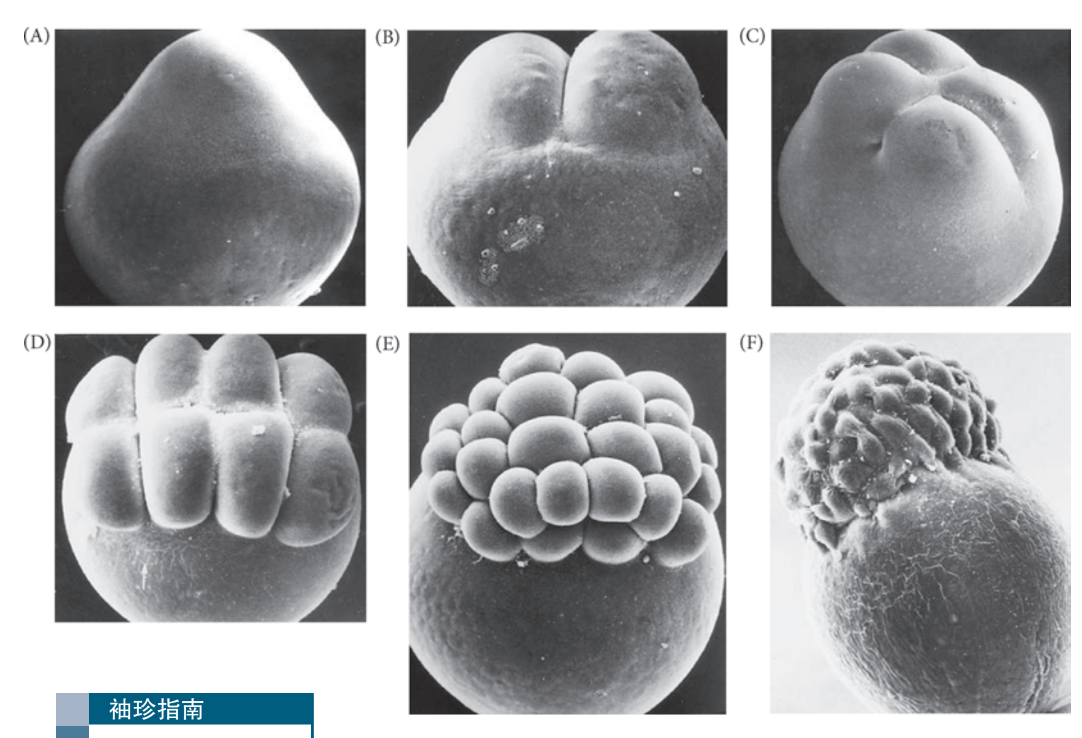
水溶性的小分子可以渗透到斑马鱼胚胎中，这一特性可以用来检测可能对脊椎动物发育有害的药物。举一个例子，添加乙醇或视黄酸可使斑马鱼的发育发生变化，这两种分子在斑马鱼中造成的畸形与它们导致的人类发育综合征相似（Blader and Strähle 1998）。如同一位斑马鱼研究者戏言的那样："鱼确实是有鳍的小型人类"（Bradbury 2004）。

11.2.1 卵裂

大部分硬骨鱼的卵是**端黄卵**（**telolecithal**），意思是大部分细胞质被卵黄占据。卵裂只能发生在**胚盘**（**blastodisc**），这是一个位于动物极处，没有卵黄的薄层细胞质区域。细胞分裂并不完全将卵分开，因此这种形式的卵裂被称为**不完全卵裂**（**meroblastic**，希腊语 *meros* 意为"部分"）。由于只有胚盘部分变为胚胎，这种不完全的卵裂类型被称为**盘状卵裂**（**discoidal**）。

扫描电子显微照片完美地显示了鱼卵盘状不完全卵裂的不完全性（图 11.35）。在受精时启动的钙波刺激肌动蛋白细胞骨架收缩，向卵的动物极挤压无卵黄的细胞质。这一过程将球形的卵转变成具有顶部胚盘的梨形结构（Leung et al. 1998，2000）。在鱼中，有很多钙释放波，它们协调细胞分裂过程。钙离子对协调有丝分裂非常关键，它们将有丝分裂纺锤体和肌动蛋白细胞骨架的运动整合起来，使卵裂沟变深，并在卵裂球分开之后愈合细胞膜（Lee et al. 2003）。

最初的几次细胞分裂采取一个高重复性的经向和纬向卵裂图式。细胞迅速分裂，每15 min分裂一次。



袖珍指南

斑马鱼发育这一部分的视频展示了这个生物的美妙和快速发育。

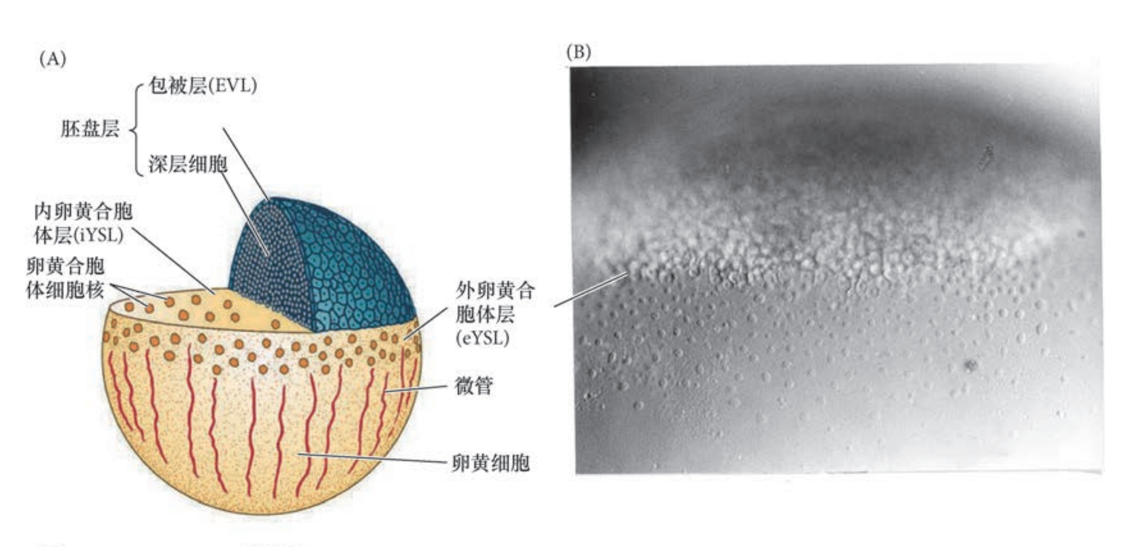
图 11.35 斑马鱼卵的盘状不完全卵裂。(A) 单细胞胚胎。细胞质上方的小丘是胚盘。(B) 2细胞的胚胎。(C) 4细胞的胚胎。(D) 8细胞的胚胎形成两排细胞，每排4个细胞。(E) 32细胞的胚胎。(F) 64细胞的胚胎，可见胚盘位于卵黄细胞之上（来自 Beams and Kessel 1976，由作者提供）。

前 10 次分裂是同步的，在动物极形成一个坐落在大的**卵黄细胞**（**yolk cell**）上的细胞丘。这个细胞丘组成一个**胚盘层**（**blastoderm**）。最初，所有的胚盘层细胞彼此之间，以及与下面的卵黄细胞维持一些开放的连接，使中等大小的分子（17 kDa）能自由地从一个卵裂球进入另一个卵裂球（Kane and Kimmel 1993；Kimmel and Law 1985）。极为显著的是，当子代细胞迁移而彼此分离时，它们仍通过一些长的通道维持细胞之间的联系（Caneparo et al. 2011）。

母体效应突变显示卵母细胞蛋白和 mRNA 在胚胎极性、细胞分裂和体轴形成中的重要性（Dosch et al. 2004；Langdon and Mullins 2011）。与蛙中的情况一样，微管是形态发生决定物旅行的重要道路，影响微管细胞骨架形成的母体突变在早期胚胎中阻止卵裂沟和 mRNA 的正常定位（Kishimoto et al. 2004）。

与许多其他物种的胚胎相似，当合子基因开始转录、细胞分裂变慢及细胞运动变得明显时，鱼的胚胎进行中囊胚期转换；这在斑马鱼中大致发生在第 10 个细胞分裂周期（Kane and Kimmel 1993）。这时可以区分出三个不同的独立细胞群体（Agassiz and Whitman 1884；Carvalho and Heisenberg 2010）。第一个是**卵黄合胞体层**（**yolk syncytial layer，YSL**）。YSL 不向胚胎贡献细胞或者细胞核，但它对鱼的组织者的产生、中胚层的图式化及引导外胚层的外包具有关键作用（Chu et al. 2012）。YSL 在第 10 个细胞周期形成。此时，胚盘层的植物极边缘细胞与下面的卵黄细胞融合。这种融合在紧邻胚盘层下部的卵黄细胞质中产生一圈细胞核。之后，胚盘层向植物极扩展，包围卵黄细胞，一些卵黄合胞体细胞核运动至胚盘层之下，形成**内卵黄合胞体层**（**internal YSL，iYSL**），其他卵黄合胞体细胞核向植物极运动，维持在胚盘层边缘的前部，形成**外卵黄合胞体层**（**external YSL，eYSL**；**图 11.36A，B**）。卵黄合胞体层对引导原肠胚形成中的一些细胞运动起重要作用。

在中囊胚期转换时形成的第二个细胞群体是**包被层**（**enveloping layer，EVL**）。它由胚盘层的最



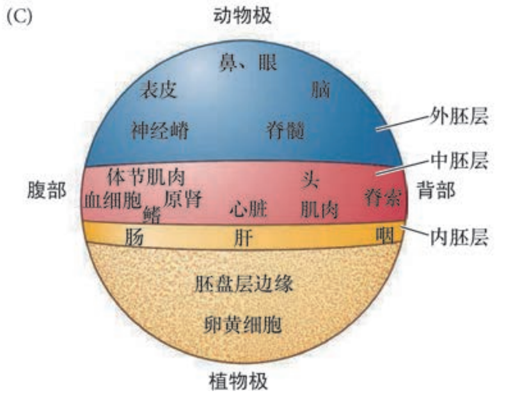


图 11.36 鱼的囊胚。（A）在原肠胚形成之前，深层细胞被包被层（EVL）所包围。卵黄细胞的动物极表面扁平，并含有卵黄合胞体层（YSL）的细胞核。微管延伸通过卵黄细胞质和外卵黄合胞体层。（B）米诺鱼（*Fundulus*）的晚期囊胚，显示外卵黄合胞体层。这些细胞的细胞核来自胚盘层边缘的细胞，它们将细胞核释放到卵黄细胞的细胞质。（C）细胞混合停止后深层细胞的命运图谱，显示侧面观。为了清晰起见，这里没有标记所有器官的命运（A 图和 C 图参考 Langeland and Kimmel 1997；B 图来自 Trinkaus 1993，由 J. P. Trinkaus 提供）。

表层细胞组成，形成一个单层细胞厚度的上皮细胞层。包被层是一个保护性的覆盖层，2 周后即脱落。它使胚胎能够在一个低渗的溶液（如淡水）中发育，否则细胞将会胀裂（Fukazawa et al. 2010）。在包被层和卵黄合胞体层之间是第三组卵裂球，也就是**深层细胞**（**deep cell**），这些细胞形成胚胎本体。

早期胚盘层细胞的命运尚未决定，细胞谱系研究（将非扩散性的荧光染料注射到单个细胞后追踪其后代细胞）显示卵裂期间发生很大程度的细胞混合。此外，任何一个早期卵裂球都能产生各种难以预测的后代组织（Kimmel and Warga 1987；Helde et al. 1994）。在原肠胚形成开始前可以制作胚盘层细胞的命运图谱。这时，胚胎中一些特定区域的细胞以一种高度可预测的方式形成某些组织，尽管它们仍然维持可塑性，而且被移植到新的位置时命运能发生改变（**图 11.36C**；也见图 1.11）。

11.2.2 原肠胚形成和胚层形成

斑马鱼胚盘层的所有三层都进行外包。鱼的原肠胚形成过程中最早的细胞运动是胚盘层细胞向卵黄外包，这一运动被认为是受控于一些母体蛋白（如 Eomesodermin），以及卵黄合胞体层细胞核中新合成的蛋白质（Du et al. 2012）。在这一运动的初始阶段，胚盘层的深层细胞向外移动，嵌插到更靠近胚胎表面的细胞，并且卵黄细胞（与其合胞体细胞核）向上推动（Warga and Kimmel 1990）。这样的细胞嵌插导致胚盘层细胞的“穹顶”变平（**图 11.37A**）。

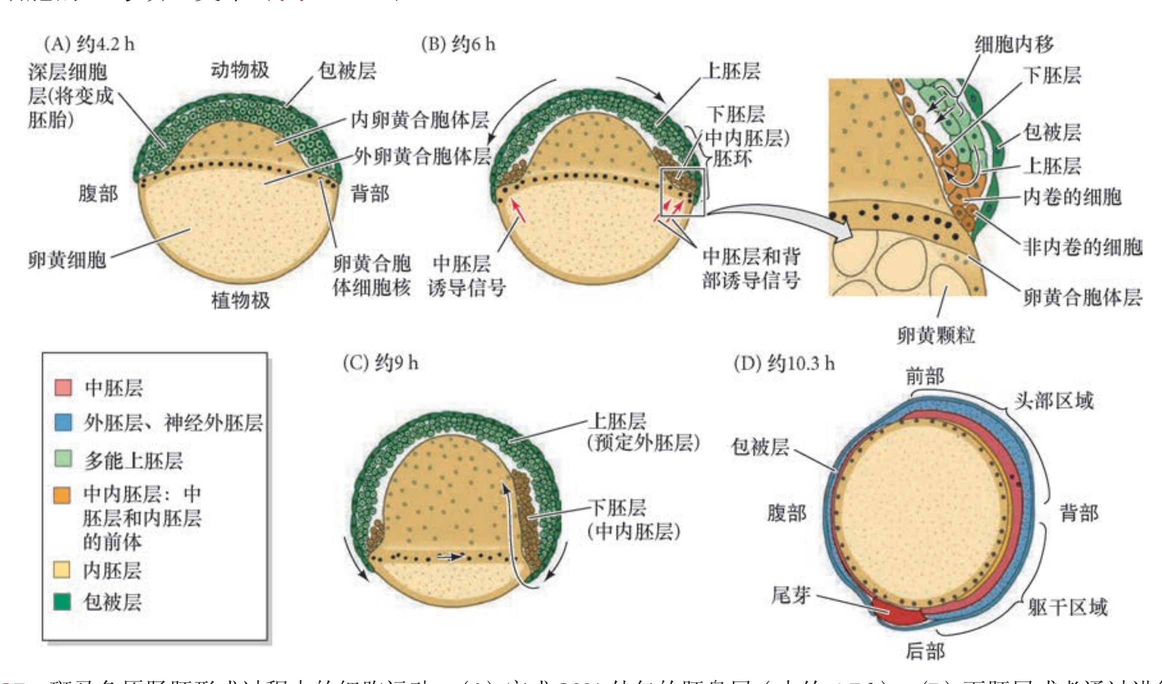


图 11.37 斑马鱼原肠胚形成过程中的细胞运动。(A) 完成 30% 外包的胚盘层（大约 4.7 h）。(B) 下胚层或者通过进行外包的胚盘层边缘的细胞的内卷，或者通过来自上胚层细胞的分层和内移而形成（6 h）。边缘区的放大图显示在右侧。(C) 在外胚层接近完成外包时，携带中胚层和内胚层前体细胞的下胚层开始覆盖卵黄。(D) 原肠胚形成结束（10.3 h）。胚胎形成三个胚层（黄色的内胚层、蓝色的外胚层、红色的中胚层）（参考 Driever 1995；Langeland and Kimmel 1997；Carvalho and Heisenberg 2010；Lepage and Bruce 2010）。

外包的进程 在大约一半的卵黄被覆盖后，胚胎便起始一系列新的运动。卵黄合胞体层的细胞核分裂，使一些细胞核（组成外卵黄合胞体层）保留在卵黄细胞的上部皮质，而内卵黄合胞体层则位于胚盘层之下。包被层通过上皮钙黏素和紧密连接被密切地连接到内卵黄合胞体层（Shimizu et al. 2005a；Siddiqui et al. 2010），随着内卵黄合胞体层细胞核“向下”迁移，包被层被拉向腹部。胚盘层边缘向植物极的迁移依赖于卵黄合胞体层的外包。如果中断卵黄合胞体层和包被层之间的附着，包被层和深层细胞反弹回卵黄的顶部，而卵黄合胞体层继续围绕卵黄细胞扩展（Trinkaus 1984，1992）。

卵黄合胞体层向腹部的迁移部分依赖于这层细胞的分裂和相互嵌插而引起的扩张，另外也依赖于卵黄细胞的细胞骨架网络（见 Lepage and Bruce 2010）。在卵黄合胞体层和包被层的边界处，外卵黄合胞体层中形成一个肌动球蛋白条带。这个条带通过收缩和摩擦将卵黄合胞体层 / 包被层的植物极连接处向下拉（Behrndt et al. 2012）。与此同时，外卵黄合胞体层的细胞核好像也沿着卵黄细胞中动 - 植物极轴向排列的微管迁移，可能在卵黄细胞上拉动内卵黄合胞体层及其伴随的包被层。阻止微管蛋白聚合的药物或者辐射能减慢外包（Strahle and Jesuthasan 1993；Solnica-Krezel and Driever 1994）。在原肠胚形成结束时，整个卵黄细胞都被胚盘层覆盖。

下胚层的内化　在胚盘层细胞覆盖大约一半卵黄细胞时，深层细胞的整个边缘开始增厚。这一增厚的区域称为**胚环**（**germ ring**），由一层表层细胞和一层内层细胞组成。表层细胞是上胚层（将来变成外胚层），内层细胞是**下胚层**（**hypoblast**），将来变成内胚层和中胚层。下胚层在一个同步的内化“波”中形成（Keller et al. 2008），这个内化具有一些内移的特征（尤其在背部区域；见 Carmany-Rampey and Schier 2001）和一些内卷的因素（特别是在腹部区域）。因此，随着胚盘层细胞围绕卵黄细胞进行外包，它们也将胚盘层边缘的细胞内化以形成下胚层。上胚层细胞（预定外胚层）不进行内卷，但是深层细胞（未来的中胚层和内胚层细胞）却进行内卷（**图 11.37B，C**）。随着下胚层细胞的内化，未来中胚层细胞（下胚层细胞的大部分）开始向植物极迁移，同时进行增殖以产生新的中胚层细胞。在后期，它们改变方向，向动物极迁移。但是，内胚层前体似乎在卵黄上随机移动（Pézeron et al. 2008）。迁移和细胞特化的协调是通过物理力量而非化学因素实现的。用药物干扰皮质细胞骨架时，细胞不能内卷，中胚层基因也不能激活。但是，如果细胞在接触药物之前被注入磁性颗粒，那么它们可以在胚胎周围被机械力拖曳。这些细胞不进行内卷，但中胚层基因的确能被激活。因此，在正常发育过程中，外包和细胞特化可能受内卷的机械力协调（**图 11.38**；Brunet et al. 2013）。

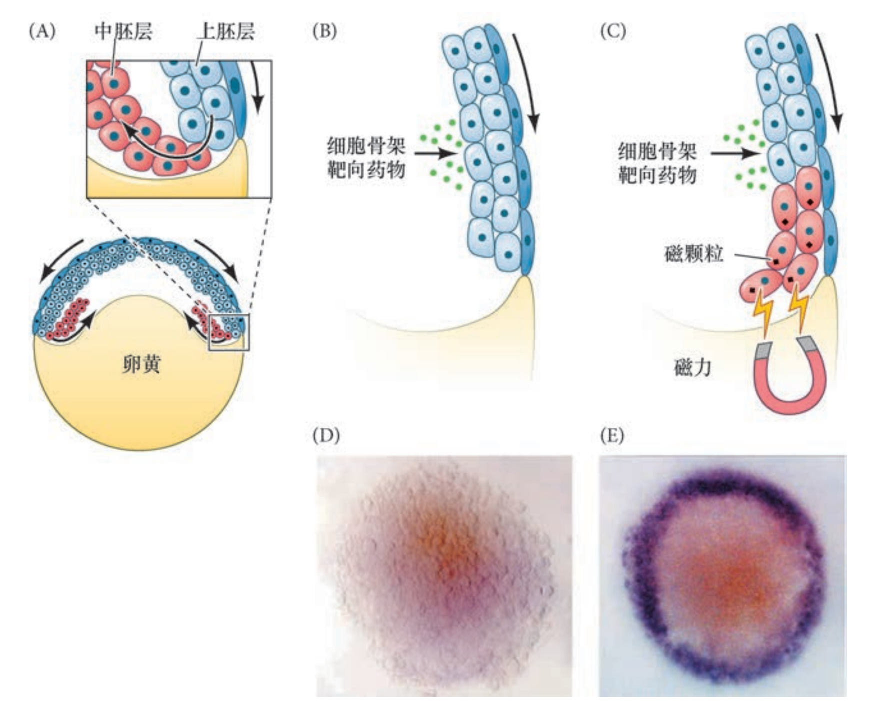


图 11.38　拉伸斑马鱼的上胚层细胞能产生中胚层。(A) 在外包过程中，位于边缘的细胞发生结构变化并内卷。同时，中胚层基因（红色）被激活。(B) 当皮质细胞骨架的收缩被抑制时，动物帽细胞仍维持它们的外胚层状态，不进行内卷。(C) 如果用磁场拖拉这些细胞，中胚层基因就开始表达。(D，E) 这两个图分别是 (B) 和 (C) 从动物极观察的效果图，显示中胚层表达 *Notail* 基因（*Brachyury* 基因在斑马鱼中的同源物）。(D) 在没有内卷时，*Notail* 的表达被抑制。(E) 拉伸和随后的内卷诱导 *Notail* 的表达（A ～ C 图参考 Piccolo 2013；D 图和 E 图来自 Brunet et al. 2013）。

胚盾和神经龙骨　一旦下胚层形成，上胚层和下胚层细胞在胚胎的未来背侧相互嵌插，形成一个区域性的增厚（Schmitz and Campos-Ortega 1994），也就是**胚盾**（**embryonic shield**）。在这里，细胞汇聚并向前延伸，最终在背部中线的位置变窄（**图 11.39A**）。下胚层的集中延伸形成脊索中胚层，即脊索的前体组织（Trinkaus 1992；**图 11.39B，C**）。这种集中延伸与非洲爪蛙中的运动类似，并且也受 Wnt 介导的平面细胞极性信号途径调控（见 Vervenne et al. 2008）。

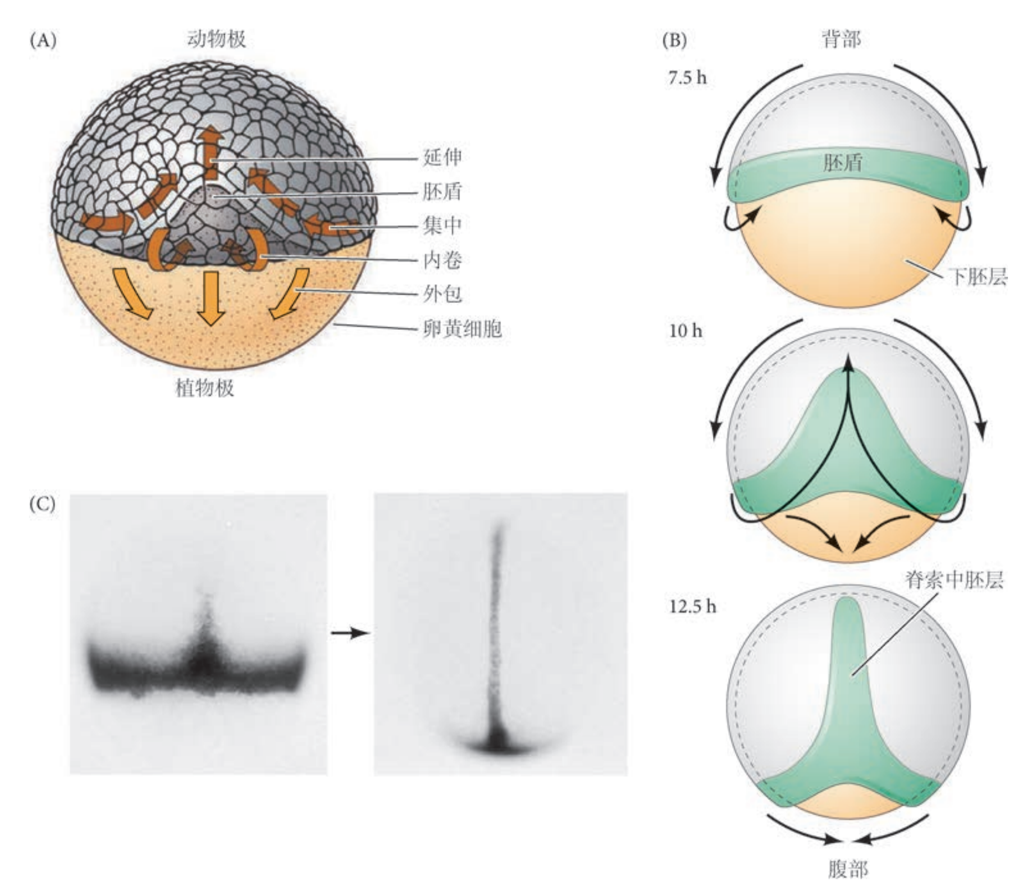


图 11.39　斑马鱼原肠胚的集中和延伸。(A) 在斑马鱼的原肠胚形成过程中，从背部观察的集中和延伸运动。外包使胚盘层在卵黄上伸展；内卷和内移产生下胚层；集中和延伸将下胚层和上胚层细胞带到背侧，形成胚盾。在胚盾中，细胞相互嵌插将脊索中胚层向动物极延伸。(B) 中内胚层（下胚层）形成的模型。数字表示受精后的时间。在未来的背侧，内化的细胞进行集中延伸，形成脊索中胚层（脊索），以及与之相邻的轴旁（体节）中胚层；在腹侧，下胚层细胞与正在外包的上胚层细胞一起向植物极迁移，并最终在那里汇合。(C) 下胚层细胞中，脊索中胚层的集中延伸。这些细胞被它们所表达的编码 T-box 转录因子的 *Notail* 基因（黑色区域）所标记 (A 图和 C 图来自 Langeland and Kimmel 1997，由作者提供；B 图参考 Keller et al. 2001)。

观察发育 11.6　观察一个细胞“球”被转变成一个具有明显延伸的前 - 后轴结构时所发生的集中延伸运动。

如同我们将要看到的那样，胚盾在功能上与两栖类的背胚孔唇具有同等的功能，因为它被移植到受体胚胎中能组织形成一个次级胚胎体轴 (Oppenheimer 1936；Ho 1992)。与脊索中胚层相邻的细胞（也就是轴旁中胚层细胞）是中胚层体节的前体（见第 17 章）。同时发生在上胚层的集中和延伸将预定神经细胞从上胚层带至背部中线，在那里形成**神经龙骨** (**neural keel**)。这是神经前体组成的一个条带，在中轴中胚层和轴旁中胚层上延伸，最终发育成裂隙样的狭长空腔而变成神经管，并进入胚胎内部[7]。上胚层中剩余的那些细胞变成表皮。在腹侧（见图 11.39B)，下胚层环向植物极运动，在上胚层（正在卵黄细胞上进行外包运动）的下方迁移。最终，下胚层环在植物极处闭合，将那些将要变成中胚层和内胚层细胞内化 (Keller et al. 2008)。

观察发育 11.7　观看斑马鱼神经胚形成的两个视频，以及 Rolf Karlson 博士显示斑马鱼发育的精彩视频。

[7] 这与蛙胚胎中神经管的形成不同，而可能与哺乳动物胚胎后部的“次级”神经管形成相同。

通过不同的机制，非洲爪蛙的卵和斑马鱼的卵达到同一状态：它们变成了多细胞；它们已经进行了原肠胚形成；而且它们已经将自身的一些胚层定位，使得外胚层处在外部、内胚层在内部、中胚层位于内外两个胚层的中间。现在我们将要看到，斑马鱼形成体轴的方式与非洲爪蛙的方式非常类似，而且是使用了相似的分子。

11.2.2.1　背 - 腹轴的形成

如上所述，鱼的胚盾与两栖类的背胚孔唇是同源的，对于建立背 - 腹轴尤为关键。胚盾组织能将侧部中胚层和腹部中胚层（血细胞和结缔组织的前体）转变为背部中胚层（脊索和体节），并且能将外胚层变成神经细胞而不是外皮细胞。这种转变能力可以通过移植实验显示出来，也就是把一个早期原肠胚的胚盾移植到另一个胚胎的腹部（图 11.40；Oppenheimer 1936；Koshida et al. 1998）。这时，尽管索前板和脊索来自供体的胚盾，但第二体轴的其他器官却来自受体的胚胎组织；在正常情况下，这些组织将形成腹部结构。新的体轴是被供体细胞诱导而形成的。

与两栖类的胚孔唇类似，胚盾在发育的胚胎中形成索前板和脊索。索前板细胞是最早进行内卷的细胞，它们向动物极迁移（Dumortier et al. 2012）。预定索前板和脊索诱导外胚层形成神经外胚层，而且它们的诱导方式与两栖类中的同源结构非常相似[8]。与两栖类一样，鱼利用胚胎腹部和侧部产生的骨形态发生蛋白（尤其是骨 BMP2B）及 Wnt 蛋白（尤其是 Wnt8）诱导表皮（见 Schier 2001；Tucker et al. 2008）。斑马鱼和非洲爪蛙的脊索都分泌一些能够阻断这种诱导的因子（Chordin、头蛋白和促卵泡激素抑释素的同源物），因此使外胚层变成神经外胚层（Dal-Pra 2006）。如同两栖类，胚胎背部产生的成纤维细胞生长因子也抑制编码骨形态发生蛋白的基因表达（Fürthauer et al. 2004；Tsang et al. 2004；Little and Mullins 2006）。在胚胎的尾部，成纤维细胞生长因子信号途径可能是主要的神经特化物（Kudoh et al. 2004）。与非洲爪蛙中的情况一样，胰岛素样生长因子对前部神经板的形成也有一定的作用。斑马鱼的胰岛素样生长因子上调 *chordin* 和 *goosecoid* 基因的表达，但抑制 *bmp2b* 基因的表达。尽管胰岛素样生长因子似乎在整个胚胎中都表达，但在原肠胚形成过程中，它们的受体主要表达在胚胎的前部（Eivers et al. 2004）。同时，一些 Wnt 的抑制物在头部的形成中也可能发挥作用。利用吗啉反义寡核苷酸在进行原肠胚形成的斑马鱼胚胎中下调 Wnt3a 和 Wnt8 时，躯干结构被前部化（Shimizu et al. 2005b）。

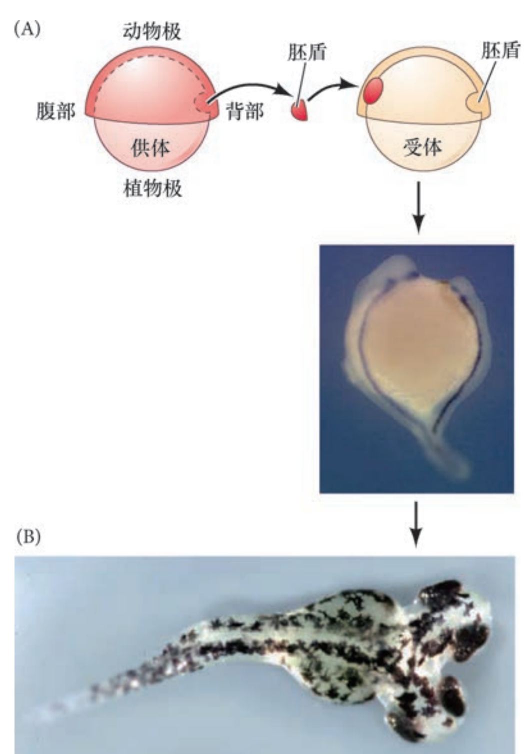


图 11.40　鱼胚胎的胚盾发挥组织者的功能。(A) 一个供体胚胎的胚盾（在这个被染色的胚胎中大约是 100 个细胞）被移植到一个同样是早期原肠胚的受体胚胎。结果是形成了连接在受体胚胎卵黄细胞处的两个体轴。在图中，两个体轴都被 *sonic hedgehog* 的 mRNA 所染色，它在腹部中线表达。右侧的胚胎是第二体轴。(B) 在胚盾将要形成的对侧激活细胞核 β- 联蛋白能得到相同的效果（A 图参考 Shinya et al. 1999，照片由作者提供；B 图由 J. C. Izpisúa-Belmonte 提供）。

在鱼中可能有另一个重要的组织化来源——整个胚孔唇。回想一下，鱼的胚孔同时围绕整个卵黄细胞。如果把背唇（胚盾）置于胚孔边缘的腹部区域，它将诱导头部结构的形成。然而，如果把它放在囊胚中只含有未分化细胞的动物

---

[8] 两栖类和斑马鱼组织者的另一个相似之处是能通过翻转卵和改变微管的定向而将它们复制（Fluck et al. 1998）。这两类动物中体轴发育的一个差异是，在两栖类，索前板对诱导脑前部的形成是必需的；在斑马鱼，尽管索前板似乎对形成腹部神经结构是必需的，但它对脑前部的形成却不是必需的（Schier et al. 1997；Schier and Talbot 1998）。

帽上，它就不会从相邻的组织中诱导出任何结构。如果把腹胚孔唇与动物帽放在一起，这样可以产生一个有序的尾部结构，具有表皮、体节、神经管，但没有背部中胚层（Agathon et al. 2003）。大部分这些结构都是从受体的组织中被诱导而形成的。因此，斑马鱼的腹胚孔唇是一个“尾部组织者”。侧胚孔唇的细胞将诱导躯干和头部的后端结构，具有脊索组织。此外，这些移植的组织不表达骨形态发生蛋白、Wnt 或者它们的拮抗剂。

由此看来，除了经典的胚盾组织者外，整个胚孔唇都参与形成头的后部、躯干和尾部，但却是通过另外一种方式。这一组体轴决定因子应该是 Nodal 和骨形态发生蛋白的双梯度（Fauny et al. 2009；Thisse and Thisse 2015）。沿着胚孔唇，从腹部到背部边缘区，骨形态发生蛋白相对于 Nodal 的活性比呈现一个连续的渐变。骨形态发生蛋白在腹部边缘区的活性最高，在侧背部变低，在最背部区域的活性为 0，因而在这个位置只有 Nodal 具有活性。因此，胚孔唇的每个区域都具有一个特定的骨形态发生蛋白相对于 Nodal 的活性比。有意思的是，如果在一个动物帽卵裂球中注射 Nodal 的 mRNA，同时在另一个动物帽细胞中注射骨形态发生蛋白的 mRNA，这样就可以形成一个完整的异位体轴（Xu et al. 2014）。这时，它们之间形成一个梯度，相邻的细胞做出应答，建立一个新的体轴（图 11.41）。

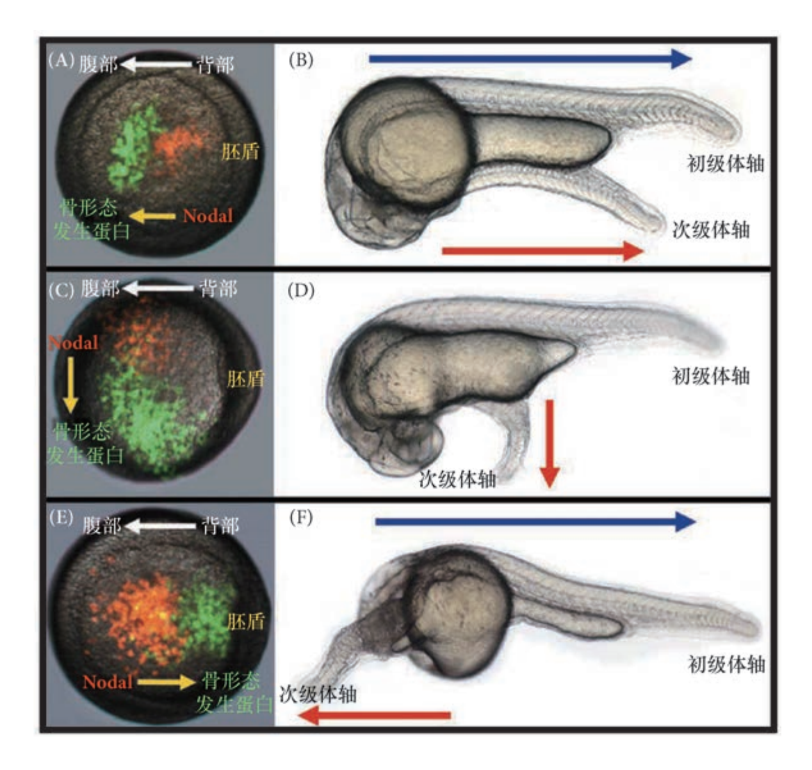
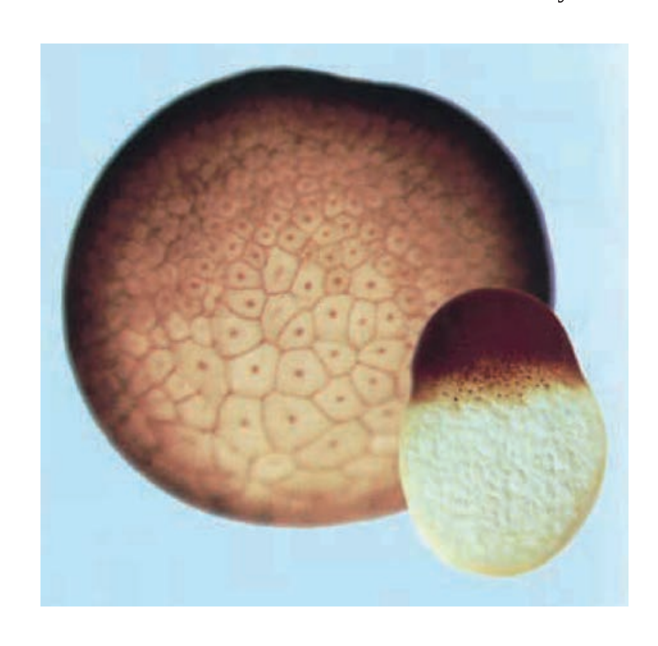


图 11.41 骨形态发生蛋白和 Nodal 分泌细胞之间的相对位置与动物帽上诱导产生的第二胚轴方向的关联。（A，B）当 Nodal- 骨形态发生蛋白矢量（A 图的黄色箭）与胚胎边缘区（Nodal 在背部的活性高，而骨形态发生蛋白在腹部的活性强）的背 - 腹轴（白色箭）平行时，初级体轴（B 图的蓝色箭）便与次级体轴（红色箭）平行。（C，D）当 Nodal- 骨形态发生蛋白矢量与初级背 - 腹轴垂直时，次级体轴便与初级体轴垂直。（E，F）当 Nodal- 骨形态发生蛋白矢量与初级背 - 腹轴相对时，初级与次级体轴便以相反的方向生长。A、C、E 图是胚盾期的动物极观；B、D、F 图是受精后 30 h 的侧面观（来自 Xu et al. 2014，图由 C. Thisse 提供）。

此外，将不同剂量的骨形态发生蛋白和 Nodal 的 mRNA 注射到囊胚动物帽的单个细胞中可以模拟胚孔唇的效果。如果骨形态发生蛋白的 mRNA 剂量高于 Nodal 的 mRNA 剂量，这样就能在胚胎的动物极处诱导出新的尾部结构。而且，这些细胞能产生后部形态发生素 Wnt8。骨形态发生蛋白与 Nodal 的 mRNA 剂量比逐渐降低时，在动物帽细胞中能诱导出第二个躯干。如果骨形态发生蛋白和 Nodal 的 mRNA 剂量相同，那么将会诱导形成头的后部（Thisse et al. 2000）。我们在前面提到，Nodal 蛋白对两栖类组织者的形成至关重要。在斑马鱼中，Nodal 在腹胚孔唇的异位表达能将腹胚孔唇转变成胚盾，诱导形成一个完整的第二体轴。斑马鱼中的胚盾可能是“头部组织者”，而与之呈 180° 角的那些细胞是“尾部组织者”。

将骨形态发生蛋白 - Chordin 轴线与骨形态发生蛋白 - Nodal 轴线整合起来的引擎好像是 β- 联蛋白。与非洲爪蛙中的情况一样，β- 联蛋白激活 Nodal 的基因。此外，β- 联蛋白还激活编码成纤维细胞生长因子及其他因子的基因，这些因子在胚胎的背部抑制骨形态发生蛋白和 Wnt 的表达，同时又在那里激活 *goosecoid*、头蛋白和 *dickkopf* 的基因（Solnica-Krezel and Driever 2001；Sampath et al. 1998；Gritsman et

al. 2000；Schier and Talbot 2001；Fürthauer et al. 2004；Tsang et al. 2004）。也像非洲爪蛙中的情况一样，β- 联蛋白特异地在注定成为背部细胞的细胞核中累积（Langdon and Mullins 2011）。还像非洲爪蛙中的情况一样，这一事件好像受母体 Wnt 蛋白调节，但在斑马鱼中是 Wnt8a（Lu et al. 2011）。β- 联蛋白的存在使背部卵黄合胞体层有别于侧部和腹部卵黄合胞体层[9]（图 11.42；Schneider et al. 1996），在卵的腹侧诱导 β- 联蛋白积累将会导致背部化和产生第二体轴（Kelly et al. 1995）。



袖珍指南

在斑马鱼发育这一部分你可以看到视黄酸的致畸作用。

图 11.42　在斑马鱼中 β- 联蛋白激活组织者基因。β- 联蛋白的细胞核定位标志非洲爪蛙囊胚的背侧（大图），并在组织者下部帮助形成 Nieuwkoop 中心。在斑马鱼的晚期囊胚中（小图），未来胚盾下部的卵黄合胞体层呈现出 β- 联蛋白的核定位（图由 S. Schneider 提供）。

科学家讲座 11.4　Bernard Thisse 博士讨论 Nodal 和骨形态发生蛋白梯度特化斑马鱼背 - 腹轴这一概念的实验。Christine Thisse 博士讨论具有两个反向梯度活性的多能细胞产生一个完整胚胎的证据。

11.2.2.2　前 - 后轴的形成

与非洲爪蛙类似，在斑马鱼中，神经外胚层沿前 - 后体轴的图式化似乎是成纤维细胞生长因子、Wnt 及视黄酸相互作用的结果。鱼的胚胎中好像存在两个独立的过程：一个是 Wnt 信号抑制前部基因的表达；另一个是 Wnt、视黄酸和成纤维细胞生长因子激活后部基因。

对前 - 后特征的调节似乎受**视黄酸 - 4 - 羟化酶**（**retinoic acid-4-hydroxylase**）协调，这是一个降解视黄酸的酶（Kudoh et al. 2002；Dobbs-McAuliffe et al. 2004）。编码这个酶的 *cyp26* 基因特异地表达在注定成为胚胎前端的区域。的确，这一基因最初在囊胚晚期开始表达，到原肠胚形成时，它的表达区域代表预定前部神经板。视黄酸 - 4 - 羟化酶阻止视黄酸在胚胎前端的积累，并在那里阻断后部基因的表达。这种抑制是相互的，因为在后部表达的一些成纤维细胞生长因子和 Wnt 抑制 *cyp26* 基因的表达，同时也抑制头部特化基因 *Otx2* 的表达。这种相互抑制在后部基因的表达区域和前部基因的表达区域之间建立一个边界。当外包继续进行时，越来越多的体轴被特化成为后部。

视黄酸发挥形态发生素的功能，以浓度依赖的方式调节细胞的特性。接受少量视黄酸的细胞表达前部基因；接受高水平视黄酸的细胞表达后部基因；而接受中等水平视黄酸的细胞表达的基因标志前部和后部区域之间的细胞所具有的特征。这一形态发生素对后脑的特化极为重要，在后脑中不同水平的视黄

[9] 一些积累 β- 联蛋白的内胚层细胞将变成 Kupffer 泡中纤毛细胞的前体（Cooper and D’Amico 1996）。我们在本章的最后部分将会讨论，这些细胞对决定胚胎的左 - 右轴有关键作用。

酸沿前 - 后轴方向特化不同类型的细胞（White et al. 2007）。

11.2.2.3 左 - 右轴的形成

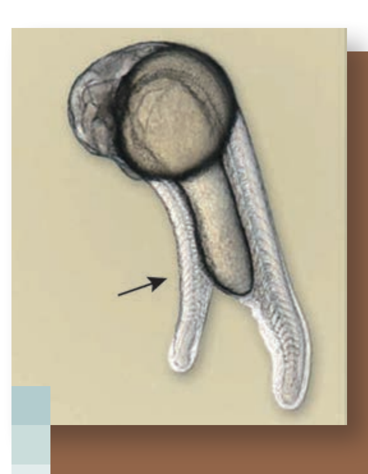
在所有被研究过的脊椎动物中，躯体左侧和右侧在解剖及发育上都有区别。在鱼中，心脏位于左侧，而且脑的左右区域也具有不同的结构。此外，如同其他脊椎动物，躯体左侧的细胞通过 Nodal 信号和 Pitx2 转录因子获得了信息。不同脊椎动物类群产生不对称的途径有所区别，但最近的证据提示，小鼠原结上动纤毛产生的水流可能在所有脊椎动物类群中参与左 - 右轴的形成（Okada et al. 2005）。

在斑马鱼中，Nodal 结构（*nodal* 基因的表达位置）含有控制左右不对称的纤毛，这是一个充满液体的暂时性器官，称为 **Kupffer 泡**（**Kupffer's vesicle**）。像前面提及的那样，在原肠胚形成结束后不久，Kupffer 泡形成于一组靠近胚盾的背部细胞。Essner 及其同事（2002，2005）将小的珠子注射进 Kupffer 泡，观察到它们从小泡的一侧移动到另一侧。抑制动力蛋白的合成或者去除纤毛细胞的前体能阻断纤毛的功能并导致左 - 右轴形成的异常。纤毛使 Nodal 信号级联反应特异地在左侧激活。Nodal 的靶基因对指令不对称器官的迁移和形态发生有至关重要的作用（Rebagliati et al. 1998；Long et al. 2003）。

观察发育 11.8 观察斑马鱼 Kupffer 泡中纤毛的旋转运动。

下一步的研究

骨形态发生蛋白 - Nodal 梯度对两栖类和鱼类的发育如此关键，也许对其他脊椎动物（包括人类）也是至关重要的。此外，是否任何多能性细胞（如人的胚胎干细胞）都对骨形态发生蛋白和 Nodal 信号的梯度产生应答？如果确实是这样，也许能够在体外诱导形态发生，并且使多能性细胞产生具有完整功能的结构。从梯度信息中了解那些产生图式化器官的一些事件可能对再生医学是一个重要突破。



开篇图的思考

这个照片中的斑马鱼胚胎有两个体轴：一个正常的体轴和一个被含有大量 Nodal 的胚胎区域诱导而成的次级体轴（箭所示）。有关联体双胎的一些新理论认为，在原肠胚形成过程中，一些信号转导分子（如 Nodal）的异位表达导致了新体轴的形成。在第 12 章我们将细致地讨论人类的联体双胎（照片由 Christine Thisse 提供）。



11 要点总结

两栖类和鱼类的早期发育

1. 两栖类的卵裂是完全卵裂，但由于植物半球中存在卵黄，所以这种卵裂是不均等卵裂。
2. 两栖类的原肠胚形成起始于瓶状细胞的内陷，随后是协调的中胚层内卷和外胚层外包。植物极旋转对引导内卷有重要作用。

3. 外胚层外包和中胚层集中延伸运动的驱动力是细胞的相互嵌插，这使几层组织被合并在一起。纤连蛋白对中胚层细胞向胚胎内部的迁移起关键作用。
4. 胚孔的背唇形成两栖类原肠胚的组织者。这一组织将外胚层背部化，将它转变成神经组织，并将腹部中胚层转变成侧部中胚层和背部中胚层。
5. 组织者由咽内胚层、头部中胚层、脊索和背胚孔唇组织组成。组织者通过分泌一些抑制骨形态发生蛋白信号的蛋白质（头蛋白、Chordin 和促卵泡激素抑释素）而发挥功能，否则，骨形态发生蛋白信号将会腹部化中胚层并在外胚层中激活表皮基因。
6. 背 - 腹轴的特化起始于储存在植物极细胞质中的母体信使和蛋白质。它们包括一些 Nodal 样的旁分泌因子、一些转录因子（如 VegT），以及一些保护 β- 联蛋白不被降解的因子。
7. 组织者本身是被位于最背部植物极细胞的 Nieuwkoop 中心诱导形成的。这一中心的形成是因为 Dishevelled 和 Wnt11 蛋白向卵的背侧转运，以稳定胚胎背部细胞中的 β- 联蛋白。
8. Nieuwkoop 中心的形成是由于 β- 联蛋白的积累，它与 Tcf3 形成一个转录因子复合物，在胚胎的背部激活 *siamois* 和 *twin* 基因的转录。
9. Siamois 和 Twin 蛋白与转化生长因子 -β 信号（Nodal、Vg1）活化的 Smad2 转录因子协同作用，激活一些编码骨形态发生蛋白抑制物的基因。这些抑制物包括一些分泌性蛋白（头蛋白、Chordin、促卵泡激素抑释素）及转录因子 Goosecoid。
10. 骨形态发生蛋白抑制物的存在使外胚层细胞形成神经组织。骨形态发生蛋白的作用使外胚层细胞形成表皮。
11. 在头部区域，另外一组蛋白质（Cerberus、Frzb、Dickkopf、Tiki）抑制腹部和侧部中胚层的 Wnt 信号。
12. Wnt 信号途径使得 β- 联蛋白沿神经板的前 - 后轴形成一个梯度，特化神经管的区域化。
13. 胰岛素样生长因子帮助神经管转变成前部（前脑）组织。
14. 左 - 右轴似乎被 Nodal 蛋白仅在胚胎左侧的激活所启动。在非洲爪蛙中，与其他脊椎动物一样，Nodal 蛋白激活 *pitx2* 基因的表达，它对区分左侧和右侧有关键的作用。
15. 鱼类的卵裂是不完全卵裂。胚盘层的深层细胞在卵黄合包体层和包被层之间形成。这些深层细胞在卵黄上迁移，形成下胚层和上胚层。
16. 在未来的背部，下胚层和上胚层相互嵌插形成胚盾，这是一个与两栖类的组织者同源的结构。将胚盾移植到另一个胚胎的腹部将导致第二个胚轴的形成。
17. 在两栖类和鱼类，神经外胚层形成于骨形态发生蛋白介导的表皮诱导被抑制的区域。像两栖类的背胚孔唇一样，鱼的胚盾分泌骨形态发生蛋白抑制物。像两栖类的组织者一样，胚盾因为受到 β- 联蛋白及其下部表达 Nodal 相关旁分泌因子的内胚层细胞的诱导而获得了组织者的能力。

拓展阅读

Carron, C. and D. L. Shi. 2016. Specification of anterioposterior axis by combinatorial signaling during *Xenopus* development. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 5: 150–168.

Cho, K. W. Y., B. Blumberg, H. Steinbeisser and E. De Robertis. 1991. Molecular nature of Spemann's organizer: The role of the *Xenopus* homeobox gene *goosecoid*. *Cell* 67: 1111–1120.

De Robertis, E. M. 2006. Spemann's organizer and self-regulation in amphibian embryos. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 296–302.

Essner, J. J., J. D. Amack, M. K. Nyholm, E. B. Harris and H. J. Yost. 2005. Kupffer's vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut. *Development* 132: 1247–1260.

Hontelez, S. and 6 others. 2015. Embryonic transcription is controlled by maternally defined chromatin state *Nature Commun.* 6: 10148.

Khokha, M. K., J. Yeh, T. C. Grammer and R. M. Harland. 2005. Depletion of three BMP antagonists from Spemann's organizer leads to catastrophic loss of dorsal structures. *Dev. Cell* 8: 401–411.

Langdon, Y. G. and M. C. Mullins. 2011. Maternal and zygotic control of zebrafish dorsoventral axial patterning. *Annu. Rev. Genet.* 45: 357–377.

Larabell, C. A. and 7 others. 1997. Establishment of the dorsal-ventral axis in *Xenopus* embryos is presaged by early asymmetries in β-catenin which are modulated by the Wnt signaling pathway. *J. Cell Biol.* 136: 1123–1136.

Lepage, E. S. and A. E. Bruce. 2010. Zebrafish epiboly: Mechanics and mechanisms. *Int. J. Dev. Biol*. 54: 1213–12211.

Niehrs, C. 2004. Regionally specific induction by the Spemann-Mangold organizer. *Nature Rev. Genet*. 5: 425–434.

Piccolo, S. and 6 others. 1999. The head inducer Cerberus is a multifunctional antagonist of Nodal, BMP, and Wnt signals. *Nature* 397: 707–710.

Reversade, B., H. Kuroda, H. Lee, A. Mays, and E. M. De Robertis. 2005. Deletion of BMP2, BMP4, and BMP7 and Spemann organizer signals induces massive brain formation in *Xenopus* embryos. *Development* 132: 3381–3392.

Spemann, H. and H. Mangold. 1924. Induction of embryonic primordia by implantation of organizers from a different species. (Trans. V. Hamburger.) In B. H. Willier and J. M. Oppenheimer (eds.), *Foundations of Experimental Embryology*. Hafner, New York, pp. 144–184. Reprinted in *Int. J. Dev. Biol.* 45: 13–311.

Winklbauer, R. and E. W. Damm. 2011. Internalizing the vegetal cell mass before and during amphibian gastrulation: Vegetal rotation and related movements. *WIREs Dev Biol*. Doi:10.1002/wdev.26.

Xu, P. F., N. Houssin, K. F. Ferri-Lagneau, B. Thisse and C. Thisse. 2014. Construction of a vertebrate embryo from two opposing morphogen gradients. *Science* 344: 87–89.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

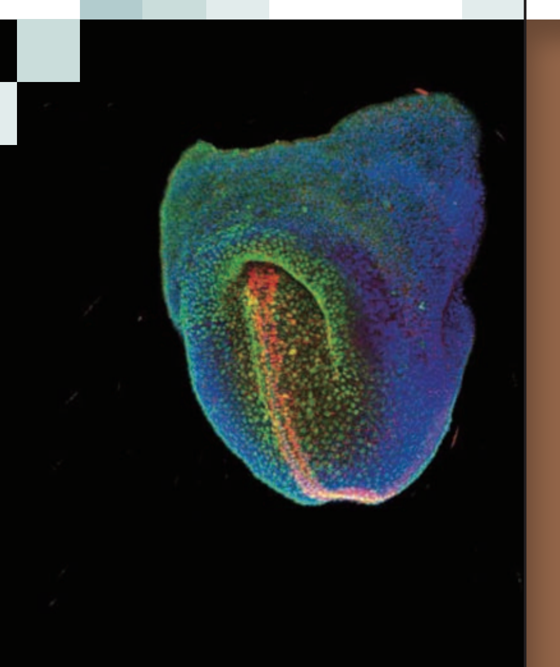
查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 12 章

鸟类和哺乳类

这个哺乳动物的胚胎如何决定哪一端是头部，哪一端是尾部？



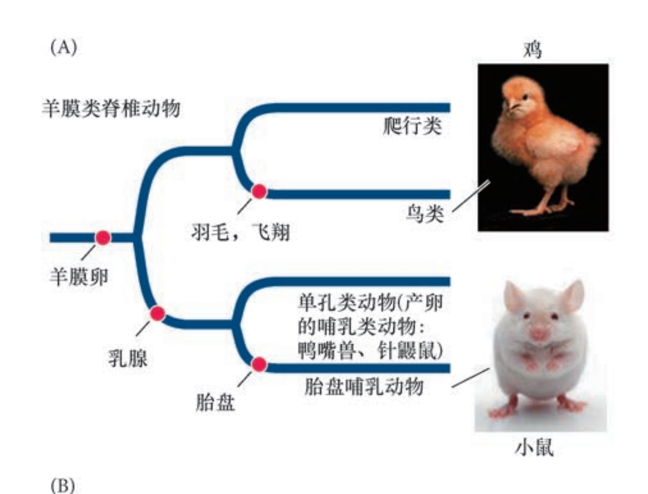


有关早期发育过程的最后一章，把我们对脊椎动物发育的研究延伸到**羊膜动物**（**amniote**），也就是那些胚胎中形成羊膜或者水囊的动物（爬行类、鸟类和哺乳类）。鸟类和爬行类采用非常相似的发育图式（Gilland and Burke 2004；Coolen et al. 2008），而且现代分类学家认为鸟类属于爬行类进化枝（**图 12.1A**）。

羊膜卵（**amniote egg**）以具有一组膜结构为特征，它们共同使得胚胎能够在陆地生存（**图 12.1B**）。首先，**羊膜**（**amnion**），即羊膜卵这个名称的由来，在胚胎发育的早期形成，这使胚胎能够漂浮在防止脱水的液体环境中。源自胚胎的另一个细胞层，也就是**卵黄囊**（**yolk sac**），使胚胎能够摄取营养并进行循环系统的发育。在胚胎后部发育的**尿囊**（**allantois**）用于储存废弃物。**绒毛膜**（**chorion**）具有血管，与外部环境进行气体交换。在鸟类和大多数爬行类，胚胎和它的这些膜被包围在一个硬的或者类似皮革的壳中，因此可使胚胎在母体外发育。鸟类和爬行类的卵裂是不完全卵裂，仅有很少一部分卵细胞质被用来形成胚

要点

鸟类和哺乳类以不同的方式开始发育。鸟类的卵裂是不完全卵裂，而哺乳类的卵裂是完全卵裂。鸡胚胎在一巨大体积的卵黄上面形成一层细胞，而基本没有卵黄的哺乳动物卵形成一个具有外部细胞层（将成为胎盘的一部分）和内部细胞团（由胚胎干细胞组成，将形成胚胎的所有细胞）的胚泡。原肠胚形成从原结处开始，这是一个很有可能受物理和化学信息共同决定的位置。Nodal 和 Wnt 蛋白对决定这一事件在何处发生，以及对胚胎前－后极性的特化尤其重要。原结延伸到原条，上层细胞迁移到并经过这一结构。迁移进入并经过原条的细胞变成中胚层和内胚层。滞留在表面的细胞变成外胚层。原结与两栖类的背胚孔唇相似，而且一些相似的分子也参与原结的形成。



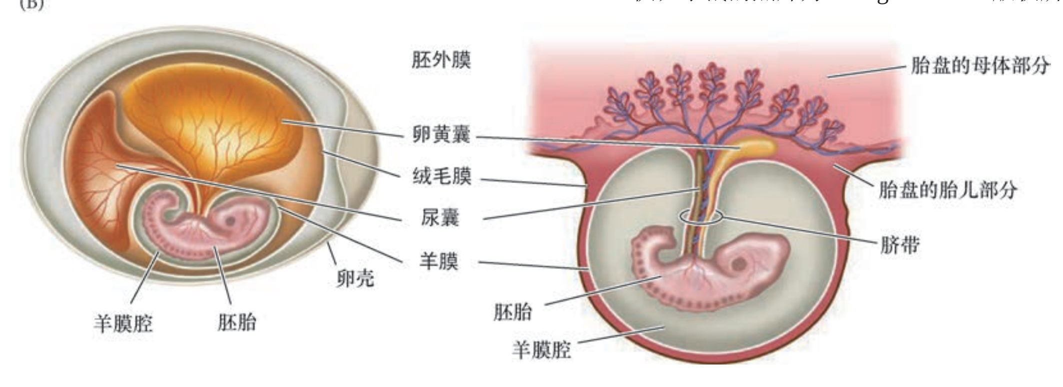


图 12.1 羊膜卵的膜是爬行类、鸟类和哺乳类的特征。(A) 羊膜动物的系统发生关系。大多数现代分类学家认为鸟类是爬行动物，但为了生理学研究它们又常被作为独立的类群。其他能够飞翔且具羽毛的爬行类没有生存到现在。家养鸡（*Gallus gallus*）是被最广泛研究的鸟类。在哺乳动物，对实验小鼠（*Mus musculus*）的发育研究最为广泛。对鸟类和小鼠的研究都有助于我们对人类发育的理解。(B) 具壳的羊膜卵（以左侧的鸡蛋为例）可以使动物远离水体而发育。羊膜为胚胎提供一个在其中发育的“水囊”；尿囊储存废弃物；绒毛膜的血管可以交换气体和卵黄囊的养分。在哺乳动物（右侧），这种结构安排发生了变化，使得血管通过胎盘与母体的子宫相连，以获取养分和进行气体交换，而不是通过卵黄囊（鸡的照片由 D. McIntyre 提供；小鼠的照片为 Antagain/iStock 版权所有）。

胎细胞。这个大体积卵中的绝大部分是由卵黄组成的，用于滋养发育中的胚胎。

在大多数哺乳动物中，完全卵裂的方式发生了改变，以适应**胎盘**（**placenta**）的形成，这是一个含有来自母体，以及胚胎的组织和血管的器官。气体交换、营养摄取及废弃物的清除都通过胎盘进行，这使胚胎能够在另一个个体的内部发育。

网络话题 12.1 胚外膜　羊膜卵受一系列膜的支持，这些膜向卵提供滋养、保护和废弃物处理服务。

自从亚里士多德首次观察并记录了家养鸡（*Gallus gallus*）为期 3 周的发育资料之后，它就成为胚胎学研究中一个被偏爱的生物。它在全年都很容易获取，而且容易饲养。此外，在任何特定的温度条件下，鸡胚胎的发育阶段都可以被精确地预测，因此可以获得大量同步发育的胚胎以用于实验操作。参与鸡胚胎器官形成的基因和细胞运动与调节哺乳动物器官形成的基因和细胞运动相似，而且鸡胚胎是少数几种易于手术和遗传操作的动物胚胎之一（Stern 2005a）。因此，鸡胚胎常被当作人类胚胎的模型，像广泛应用的实验小鼠胚胎一样。

小鼠是哺乳类模式动物的最佳选择，并且是许多研究的对象，包括遗传和手术操作。此外，小鼠的基因组是第一种被测序的哺乳动物基因组。在测序结果发表时，许多科学家感觉它比认识人类的基因组序列更有价值。他们的推论是“用小鼠模型进行研究可以对每个基因进行操作，以确定它们的功能”（Gunter and Dhand 2002）。我们不能用人类进行这样的工作。然而，人类发育是医学研究的一个主题，也是广大科学家的兴趣所在，本章的最后部分将涉及人类的早期发育，阐述模式生物中的很多原则在人类发育中的应用。

12.1 鸟类的早期发育

12.1.1 鸟类胚胎的卵裂

鸡卵的受精发生在母鸡的输卵管中，在卵被清蛋白（“蛋清”）和壳包裹之前。在发育的第一天开始

卵裂，此时卵仍处在母鸡体内，在这段时间内胚胎从一个合子发育到囊胚晚期（Sheng 2014）。像斑马鱼的卵一样，鸡的卵是端黄卵，具有一个小的盘状细胞质，也就是**胚盘**（**blastodisc**），位于巨大的卵黄顶部（图 12.2A）。与鱼卵类似，鸟类富含卵黄的卵也进行**盘状不完全卵裂**（**discoidal meroblastic cleavage**）。卵裂仅发生在胚盘，而胚盘的直径是 2 ～ 3 mm，位于卵的动物极。第一次卵裂的卵裂沟出现在胚盘中间；接下来的其他卵裂形成一个**胚盘层**（**blastoderm**）。与鱼胚胎中的情况一样，卵裂并不向卵黄细胞质延伸，因此，早期卵裂的细胞彼此连通，在它们的底部也与卵黄维持连通（图 12.2B，C）。之后，纵向和横向卵裂将胚盘层分裂成大约 4 层细胞厚度的组织，细胞之间通过紧密连接联系在一起（见图 12.2C；Bellairs et al. 1978；Eyal-Giladi 1991；Nagai et al. 2015）。从母体到合子基因的转换大约发生在第 7 或第 8 次卵裂，这时大约有 128 个细胞（Nagai et al. 2015）。

胚盘层和卵黄之间的空间称为**胚下腔**（**subgerminal cavity**），是胚盘层细胞从清蛋白（“蛋清”）中吸收水分并在细胞自身和卵黄之间分泌液体时形成的（New 1956）。在这一时期，胚盘层中间的深层细胞似乎脱落并死亡，留下只有一层细胞厚度的**明区**（**area pellucida**）；胚盘层的这一部分将形成胚胎本体

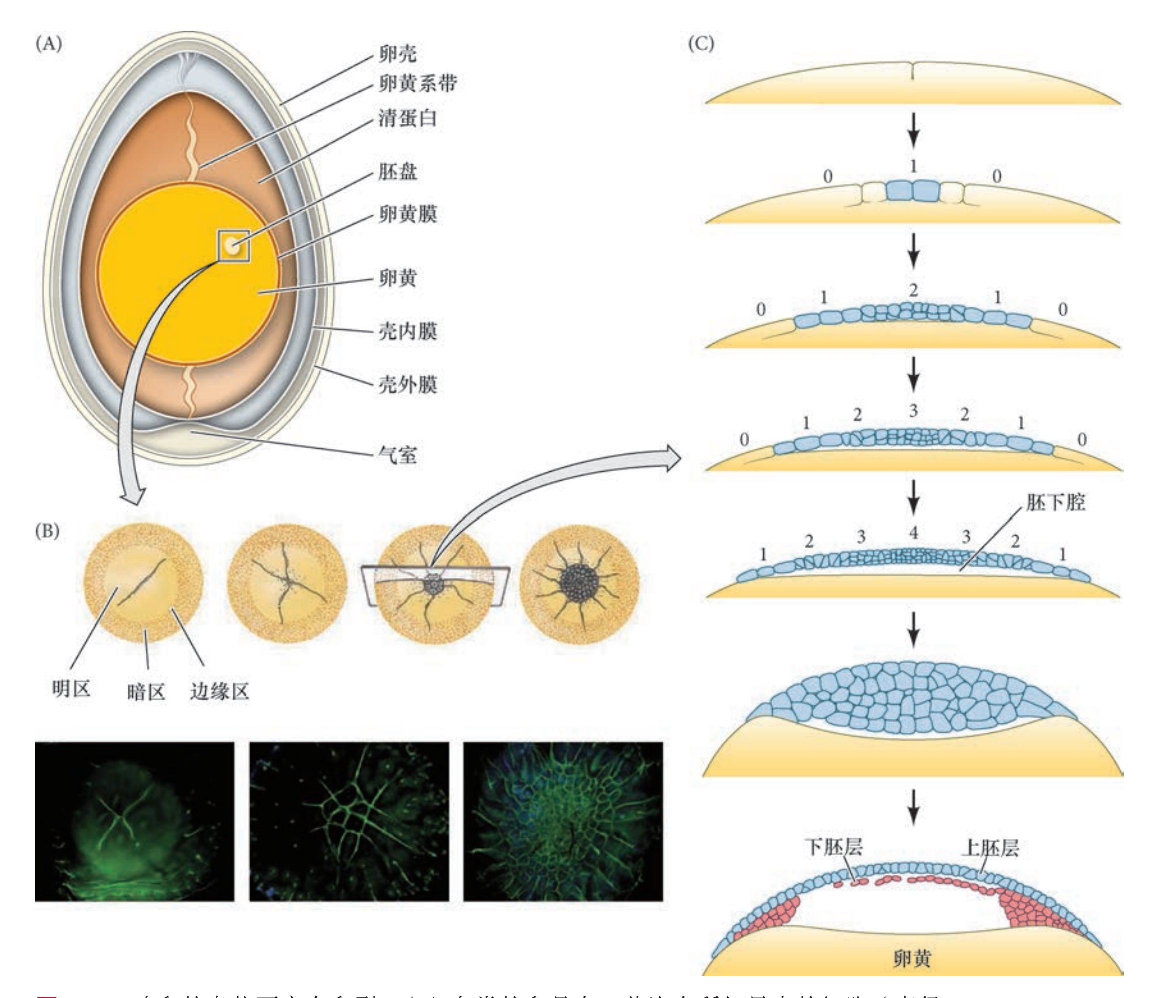


图 12.2　鸡卵的盘状不完全卵裂。(A) 鸟类的卵具有一些迄今所知最大的细胞（直径可达几英寸；1 英寸相当于 2.54 cm），但卵裂仅发生在一个很小的区域。除了很小的胚盘进行卵裂和发育以外，卵黄充满了卵细胞的全部细胞质。卵黄系带是由蛋白质组成的细带，使富含卵黄的卵细胞维持在卵壳的中央。清蛋白（蛋清）在卵经过输卵管向外排出时被分泌到卵上。(B) 从动物极（胚胎的未来背部）观察的早期卵裂期。在显微照片中，紧密并列的细胞膜用鬼笔环肽（phalloidin）染色（绿色）。(C) 受精当天仍处在母鸡体内的卵进行细胞化的示意图。数字代表细胞层数（A 图和 B 图参考 Bellairs et al. 1978，照片来自 Lee et al. 2013，由 J. Y. Han 提供；C 图参考 Nagai et al. 2015）。

袖珍指南

在鸡胚胎发育这一部分中，卵裂和原肠胚形成的 3D 模型视频有助于理解这些现象。

的大部分。胚盘层的周缘没有深层细胞脱落，形成**暗区**（**area opaca**）。在明区和暗区之间有一薄层细胞（Eyal-Giladi 1997；Arendt and Nübler-Jung 1999），称为**边缘区**（**marginal zone**）。边缘区的一些细胞在鸡早期发育的细胞命运决定中具有重要作用。

12.1.2 鸟类胚胎的原肠胚形成

12.1.2.1 下胚层

当母鸡产下一颗卵时，其胚盘层含有大约 50 000 个细胞。此时，明区的大部分细胞处在表面，形成一个“上层”，称为**上胚层**（**epiblast**）。卵被产下不久，在明区的后缘出现一个上胚层的区域性增厚，称为 **Koller 镰形区**（**Koller's sickle**）。在暗区和 Koller 镰形区之间有一个带状的区域，称为**后缘区**（**posterior marginal zone，PMZ**）。在明区和边缘区之间的后部边界处有一层细胞在表面下向前部迁移。同时，上胚层更前部区域的细胞分层并维持与上胚层的附着，形成若干个下胚层“岛”，这是一些由 5 ～ 20 个细胞组成的细胞簇（**图 12.3A，B**）。这些互不相连的细胞簇“群岛”进行迁移并形成**初级下胚层**（**primary hypoblast**）。从 Koller 镰形区向前部生长的细胞层与初级下胚层组合在一起，形成完整的下胚层（**图 12.3C ～ E**；Eyal-Giladi et al. 1992；Bertocchini and Stern 2002；Khaner 2007a，b）。这个完整的下胚层也被称为**次级下胚层**（**secondary hypoblast**）或者**内胚层**（**endoblast**）。最终形成的双层胚盘层（上胚层和下胚层）在暗区的边缘区联合在一起，在两层之间形成一个与囊胚腔类似的空腔。因此，尽管鸟类胚盘层的形状和形成不同于两栖类、鱼类及棘皮动物的囊胚，但总体空间关系仍被保留。

鸟类的胚胎完全来自上胚层；下胚层并不为发育中的胚胎贡献任何细胞（Rosenquist 1966，1972）。相反，下胚层细胞形成部分胚外膜（见图 12.1B），尤其是卵黄囊，以及连接卵黄团和内胚层消化管的连

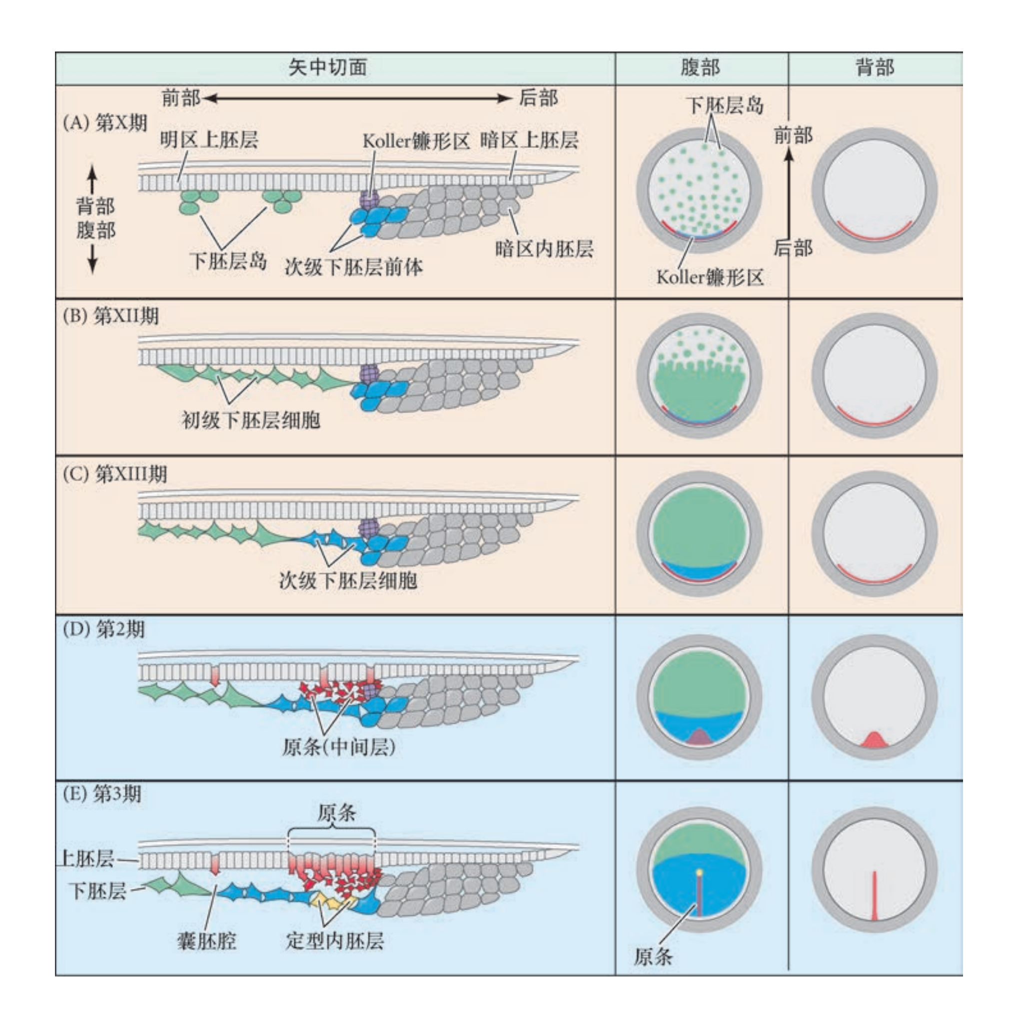


图 12.3 鸡胚胎胚盘层的形成。左侧一栏显示经过胚盘层矢中切面的示意图。中间一栏描绘整体胚胎的腹面观，显示初级下胚层和次级下胚层（内胚层）细胞的迁移。右侧一栏是整体胚胎的背面观。（A ～ C）有壳卵在排出之前的一些事件。（A）第 X 期，可见下胚层岛及下胚层细胞围绕 Koller 镰形区的聚集。（B）第 XII 期，自 Koller 镰形区向前生长的一层细胞与下胚层岛组合在一起，形成完整的下胚层。（C）第 XIII 期，在原条形成之前，下胚层已经形成。（D）第 2 期（产卵后 12 ～ 14 h），原条细胞在下胚层和上胚层细胞之间形成第三个细胞层。（E）第 3 期（产卵后 15 ～ 17 h），原条变成上胚层的一个确定区域，经过原条迁移的细胞将变成中胚层和内胚层（参考 Stern 2004）。

接柄。下胚层细胞也提供特化上胚层细胞迁移的化学信号。但是，胚体的三个胚层（加上羊膜、绒毛膜和尿囊这些胚外膜）只形成于上胚层（Schoenwolf 1991）。

12.1.2.2　原条

尽管许多爬行动物类群通过一个类似于两栖类胚孔的结构进行迁移而起始原肠胚形成，鸟类和哺乳类的原肠胚形成起始于**原条**（**primitive streak**），它可以被认为是一个伸长的两栖类胚孔唇（Alev et al. 2013；Bertocchini et al. 2013；Stower et al. 2015）。染料标记实验和延时成像表明，原条最初来自 Koller 镰形区及其上部的上胚层（Bachvarova et al. 1998；Lawson and Schoenwolf 2001a，b；Voiculescu et al. 2007）。当细胞向中线汇聚形成原条时，一个称为**原沟**（**primitive groove**）的凹陷在原条内形成。大部分迁移的细胞经过原沟，所以这是细胞通往胚胎深层的一个入口（图 12.4；Voiculescu et al. 2014）。因此，原沟与两栖类的胚孔是同源的，而原条与胚孔唇是同源的。

在原条的前端有一个局部的细胞增厚，称为**亨氏结**（**Hensen's node**），也称为**原结**（**primitive knot**；见图 12.4C）。亨氏结的中央有一个漏斗状的凹陷，有时被称为**原窝**（**primitive pit**），细胞能通过这个位置

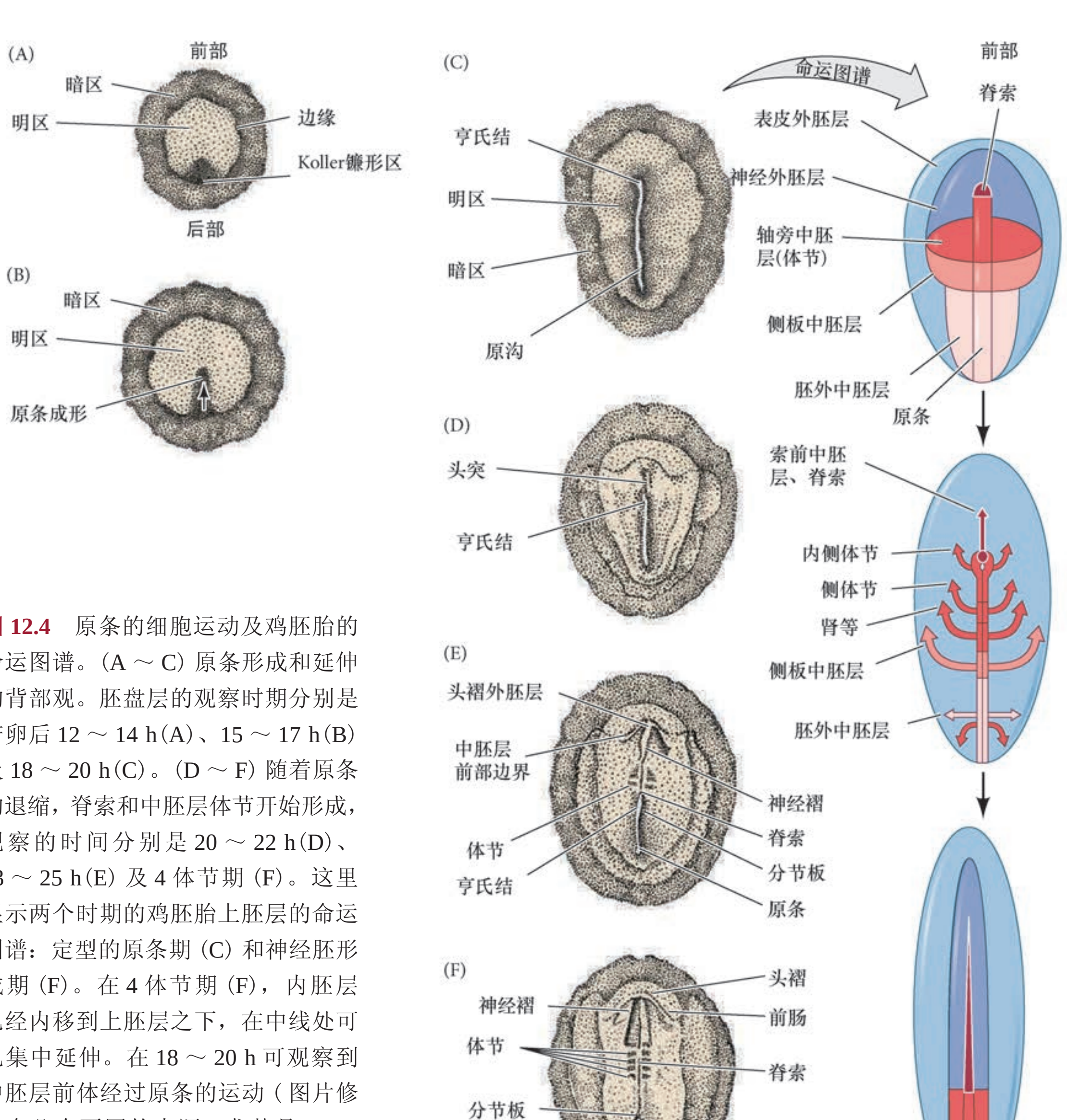


图 12.4　原条的细胞运动及鸡胚胎的命运图谱。（A ～ C）原条形成和延伸的背部观。胚盘层的观察时期分别是产卵后 12 ～ 14 h（A）、15 ～ 17 h（B）及 18 ～ 20 h（C）。（D ～ F）随着原条的退缩，脊索和中胚层体节开始形成，观察的时间分别是 20 ～ 22 h（D）、23 ～ 25 h（E）及 4 体节期（F）。这里显示两个时期的鸡胚胎上胚层的命运图谱：定型的原条期（C）和神经胚形成期（F）。在 4 体节期（F），内胚层已经内移到上胚层之下，在中线处可见集中延伸。在 18 ～ 20 h 可观察到中胚层前体经过原条的运动（图片修改自几个不同的来源，尤其是 Spratt 1946；Smith and Schoenwolf 1998；Stern 2005a，b）。

进入胚胎而形成脊索和索前板。亨氏结与两栖类的背胚孔唇（也就是组织者）[1] 及鱼类的胚盾具有功能同源性（Boettger et al. 2001）。

原条确定了鸟类胚胎的主要体轴。它从后部向前部延伸；迁移的细胞经过原条的背侧进入胚胎，然后运动到原条的腹侧；原条将胚胎的左侧部分与右侧部分隔开来。它的轴向等同于两栖类的背 - 腹轴。原条的前端，也就是亨氏结，形成索前中胚层、脊索和体节的内侧部分。经过原条中部内移的细胞形成体节的侧部，以及心脏和肾。原条后部的细胞形成侧板和胚外中胚层（Psychoyos and Stern 1996）。中胚层细胞内移后，仍然保留在外面但靠近原条的上胚层细胞将形成中间（背部）结构，如神经板；而离原条更远的上胚层细胞将形成表皮（见图 12.4，右图）。

网络话题 12.2 **组织鸡的原结** 成纤维细胞生长因子和骨形态发生蛋白对决定原肠胚形成的起始位置有重要的作用。

原条的延伸 随着细胞进入原条，它们开始进行上皮到间充质转换，位于这些细胞下部的基底膜分解。随着前部细胞向胚胎的中心迁移，原条向未来头部区域的方向延伸。集中延伸运动驱动原条延伸的进程：在原条长度加倍的同时，它的宽度减少一半（见图 12.4B）。细胞分裂与集中延伸运动共同促进原条长度的增加，而且，来自上胚层前部的一些细胞也参与亨氏结的形成（Streit et al. 2000；Lawson and Schoenwolf 2001b）。

与此同时，次级下胚层（内胚层）细胞继续从胚盘层的后缘区向前部迁移（见图 12.3E）。原条的伸长似乎来自这些次级下胚层细胞的迁移，并且下胚层能引导原条的运动（Waddington 1933；Foley et al. 2000）。最终原条延伸至明区长度 60% ～ 75% 的位置。

内胚层和中胚层的形成 羊膜类细胞特化的基本规则是各个胚层的特征（外胚层、中胚层或内胚层）在原肠胚形成起始之前就已经建立（见 Chapman et al. 2007），但细胞类型的特化在细胞经过原条迁移的过程中和迁移之后受诱导作用的调控。一旦原条形成，上胚层细胞开始经过这个位置迁移进入囊胚腔。因此，原条具有一个持续变化的细胞群体。经过原条前端向下迁移，进入囊胚腔，然后向前迁移的那些细胞形成内胚层、头部中胚层和脊索；经过原条更后部的细胞形成中胚层组织的主要部分（**图 12.5**；Rosenquist et al. 1966；Schoenwolf et al. 1992）。

最早迁移经过亨氏结的细胞是注定成为前肠咽内胚层的细胞。一旦处在胚胎的内部，这些细胞向前迁移，替换下胚层细胞，使下胚层细胞被局限在明区前部的一个区域内。这一前部区域，也就是**生殖新月**（**germinal crescent**），不形成任何胚胎结构，但它含有生殖细胞的前体，而后通过血管迁移进入生殖腺。

接下来通过亨氏结迁移的细胞也向前运动，但它们不像预定前肠内胚层细胞那样向腹部迁移得那么远（Psychoyos and Stern 1996）。相反，它们停留在内胚层和上胚层之间，形成**索前板中胚层**（**prechordal plate mesoderm**）。因此，鸟类胚胎的头部在亨氏结的前端（喙端）形成。

随后经过亨氏结的细胞变成**脊索中胚层**（**chordamesoderm**）。脊索中胚层具有两个组成部分：头突和脊索。最前面的部分，也就是**头突**（**head process**），由向前迁移的中央中胚层细胞形成，位于索前板中胚层之后并朝向胚胎的喙端（见图 12.4 和图 12.5）。头突位于形成前脑和中脑的细胞的下部。当原条退缩时，退缩的亨氏结所存留的细胞将形成脊索。在外胚层中，大部分初始的神经板对应于未来的头部区域（从前脑到未来耳泡的位置；耳泡在完整原条期与亨氏结相邻）。在亨氏结侧后面的一个小的神经外胚层区域（有时称为尾侧上胚层）将形成神经系统的其余部分，包括后脑的后部及全部脊髓。当原条退缩时，这一区域与亨氏结一起退缩，并向处在延伸过程中的神经板尾部添加细胞。原条和轴旁中胚层（未来体节）中的成纤维细胞生长因子信号似乎维持了这一区域的“年轻”和未分化状态，而当细胞离开这一区域时，视黄酸信号就会拮抗这一状态（**图 12.6**；Diez del Corral et al. 2003）。

---

[1] Frank M. Balfour 在 1873 年提出两栖类胚孔和鸡原条的同源性，当时他还是一位大学生（Hall 2003）。August Rauber（1876）提供了两者同源性的进一步证据。

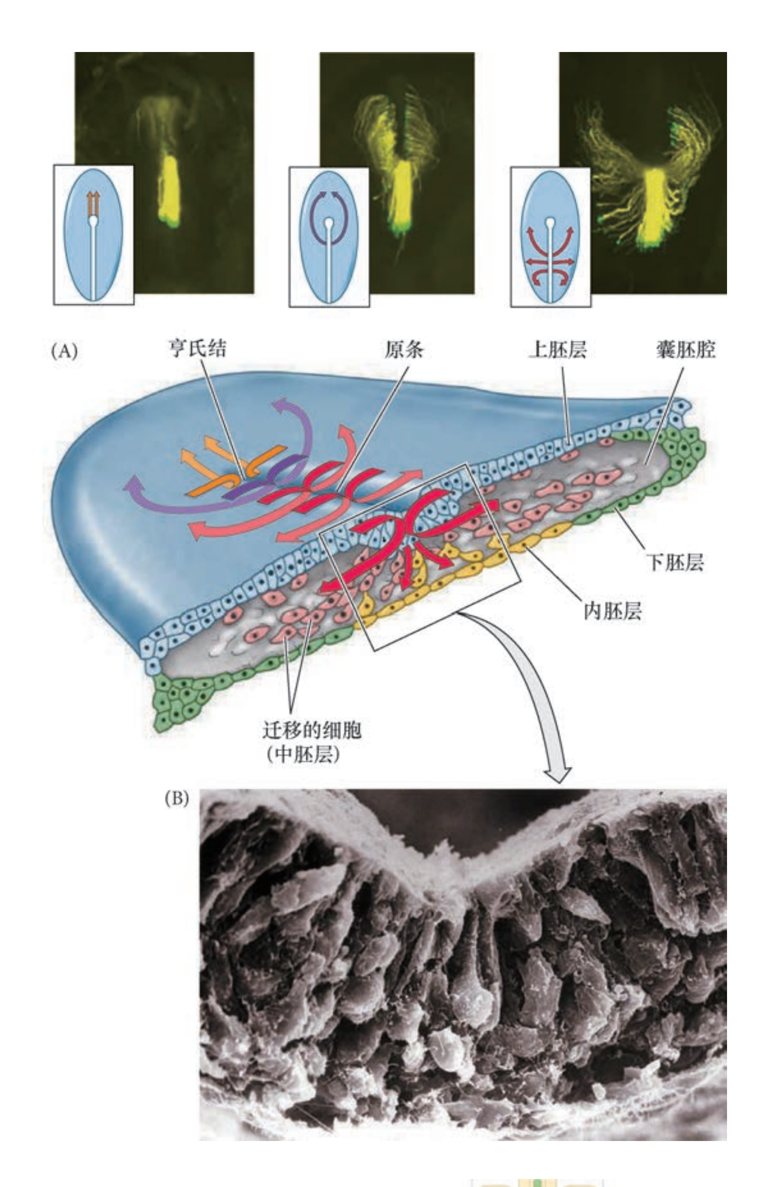


图 12.5 内胚层和中胚层细胞经过原条进行迁移。(A) 正在进行原肠胚形成的鸡胚胎立体图，显示胚盘层的原条、迁移的细胞，以及上胚层和下胚层之间的关系。下部的一层细胞变成下胚层细胞和内胚层细胞的嵌合层；下胚层细胞最终分离出来，在内胚层下部形成一层细胞，并参与卵黄囊的形成。在立体图的上方是显微照片，显示原条位置上对绿色荧光蛋白标记细胞的示踪。迁移经过亨氏结的细胞向前运动，形成索前板和脊索；那些经过原条前部区域的后部进行迁移的细胞向侧部运动，但在靠近中线处汇聚，形成脊索和体节；那些来自原条中部的细胞形成居间中胚层和侧板中胚层（见图 12.4 中的命运图谱）。再往后部，迁移经过原条的细胞形成胚外中胚层（未显示）。(B) 扫描电镜照片显示上胚层细胞进入囊胚腔，延伸其顶端而变成瓶状细胞 (A 图参考 Balinsky 1975，照片来自 Yang et al. 2002；B 图来自 Solursh and Revel 1978，由 M. Solursh 和 C. J. Weijer 提供)。

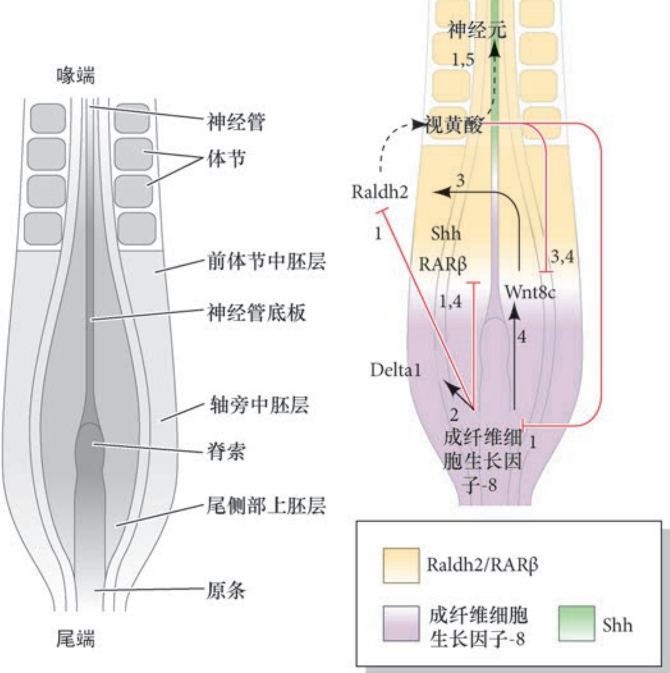


图 12.6 鸡胚胎中调节体轴延伸的信号。在第 10 期的鸡胚胎中，成纤维细胞生长因子 -8 抑制视黄酸合成酶 (Raldh2) 在前体节中胚层的表达 (1) 及视黄酸受体 (RAR β) 在神经外胚层的表达 (4)，因此阻止视黄酸启动尾侧上胚层细胞（相邻原结 / 原条边界和形成侧部以及背部神经管的那些细胞）和最尾部轴旁中胚层的分化 (1，5)。此外，成纤维细胞生长因子 -8 抑制 Sonic hedgehog (Shh) 在神经管底板的表达，控制腹部图式化基因的激活 (1)。成纤维细胞生长因子信号对 Delta1 在尾侧部上胚层中间部分的表达也是必需的 (2)，并促进 Wnt8c 的表达 (4)。当成纤维细胞生长因子 -8 在尾部轴旁中胚层中降解时，Wnt 信号（很可能被 Wnt8c 激活）促进视黄酸合成酶在邻近轴旁中胚层的表达 (4)。视黄酸合成酶的活性所产生的视黄酸抑制成纤维细胞生长因子 -8 (1) 和 Wnt8c (3，4)（参考 Wilson et al. 2009）。

 科学家讲座 12.1 Steven Oppenheimer 博士关于鸡胚胎发育的讲座。

12.1.2.3 经过原条迁移的分子机制

原条的形成 Ludwig Gräper 首次研究了鸡胚胎的上胚层细胞通过迁移而形成原条，他于 1926 年利用延时成像的方法在显微镜下拍摄了标记的细胞。这些运动让他想起了波罗乃兹舞。在这个宫廷舞蹈中，并排的男女沿舞厅的两边平行移动，在“后部”的男女离开各自的行列，经过中央向前舞动。利用能够分辨单个运动细胞的现代显微摄影技术（尤其是多光子的延时显微技术），Voiculescu 及其同事（2007）揭示了细胞“舞蹈”的机制。他们发现，细胞从上胚层的两边下来，在正处于原条形成过程的后缘位置进行内向的细胞嵌插（图 12.7）。尽管从远处看这种运动好像是一种舞蹈，但“在高倍镜下观察，它就像一个交通高峰期”（Stern 2007）。

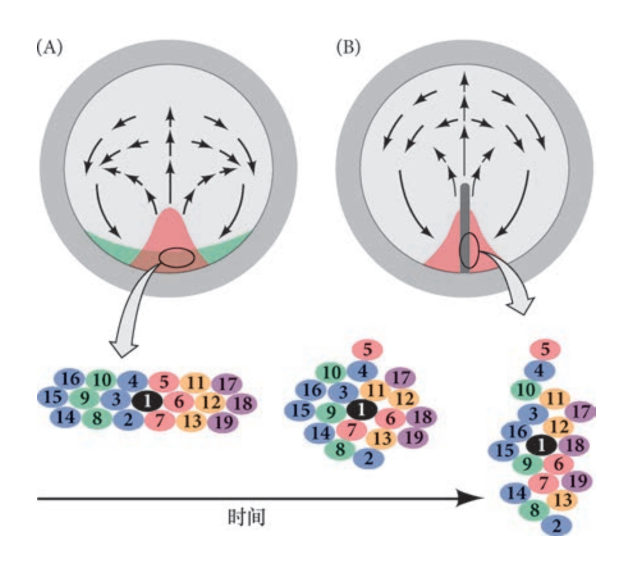


图 12.7 原条形成过程中细胞的内外向嵌插。原条形成之前（A）和原条形成之后不久（B）。箭指示细胞向原条方向且在其前部进行位置替换。红色区域表示原条正在形成的位置。在（A）中，这一区域的最初位置用绿色表示。下面一行显示圈中的区域。每个不同颜色的小椭圆圈代表一个细胞。在原条形成时，它们进行内外向嵌插（参考 Voiculescu et al. 2007）。

在胚胎后部邻近 Koller 镰形区的上胚层中激活的 Wnt 平面细胞极性途径（见第 4 章）介导这一向中间冲刺的细胞运动。如果阻断这一途径，中胚层和内胚层将在外周形成，而不是在中间位置。Wnt 通路进而被下胚层产生的一些**成纤维细胞生长因子**（**fibroblast growth factor**，**FGF**）所激活。如果把下胚层旋转，原条的方向也随之改变。此外，如果在上胚层的边缘激活成纤维细胞生长因子信号，Wnt 信号也将在那里被激活，原条的方向也将发生改变，就好像下胚层被放置在那个位置。因此，形成原条的细胞运动似乎受来自下胚层的成纤维细胞生长因子调节，它在上胚层激活 Wnt 平面细胞极性途径。

通过原条的迁移 细胞向原条迁移，在进入胚胎时分成两层。深层细胞沿中线加入到下胚层，使下胚层细胞位移到两侧。这些向深层运动的细胞形成胚胎的内胚层器官，以及大部分胚外膜（下胚层和暗区外围的细胞形成其余的部分）。第二个迁移的细胞层在内胚层和上胚层之间扩展，形成一层松散的细胞。这一中间层细胞产生胚胎的中胚层部分及胚外膜的中胚层内衬。

中胚层细胞通过原条的前部迁移并且聚缩形成脊索中胚层，这一过程似乎也受成纤维细胞生长因子和 Wnt 信号调控。成纤维细胞生长因子 -8 表达在原条，并将迁移的细胞从原条中驱除。Yang 及其同事（2002）追踪了细胞通过原条进行迁移的轨迹（见图 12.5），并利用能够释放成纤维细胞生长因子 -8 的珠子使正常的迁移轨迹发生偏移。

一旦细胞迁移远离原条，中胚层前体的进一步运动可能受 Wnt 蛋白调节。在更后部的区域，Wnt5a 不受约束，所以能引导细胞向更广的区域迁移，使它们变成侧板中胚层（见第 18 章）。然而，在原条更前部的区域，Wnt5a 受到 Wnt3a 的限制，Wnt3a 抑制细胞的迁移，使它们形成轴旁中胚层（见第 17 章）。

的确，将分泌 Wnt3a 的颗粒置入原条的后部能抑制细胞向侧部迁移，同时也能抑制侧板中胚层的形成（Sweetman et al. 2008）。在孵育 22 h 的胚胎中，大部分预定内胚层细胞已经处在胚胎的内部，尽管预定中胚层细胞还将继续向内迁移更长的时间。

12.1.2.4　原条的退缩和外胚层的外包

这时起始了一个新的发育阶段。当中胚层继续内移时，原条开始退缩，使亨氏结从靠近明区中间的位置向更靠后的位置运动（图 12.8）。退缩的原条在其尾迹中留下胚胎的背轴，包括脊索。脊索是以从头到尾的方向放置，从耳和后脑形成的位置开始，向尾部延伸到尾芽。与蛙胚胎一样，咽内胚层和头部中内胚层将诱导脑的前部，而脊索将诱导后脑和脊髓。这时，所有预定内胚层和中胚层细胞都已进入胚胎，而且上胚层完全由预定外胚层细胞组成。

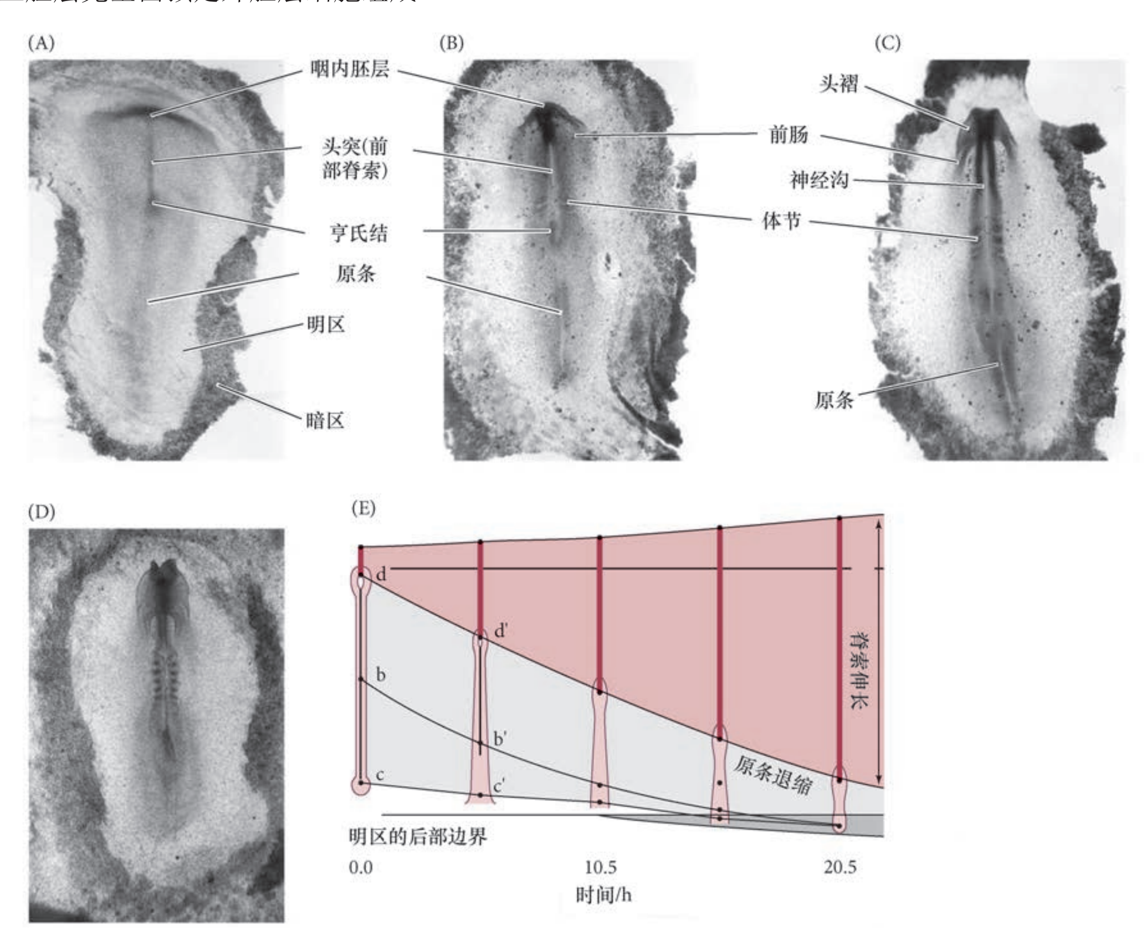


图 12.8　受精后 24 ～ 48 h 鸡胚胎的原肠胚形成。(A) 完全伸展的原条 (24 h)。可见头突（前部脊索）从亨氏结延伸。(B) 2 体节期 (25 h)。在前部可见咽内胚层，而前部脊索在其下方将头突向上推。原条正在退缩。(C) 4 体节期 (27 h)。(D) 在 28 h，原条已经退缩到胚胎的尾部。(E) 原条的退缩将脊索留在其尾迹上。在原条达到最大长度后，跟踪原条中的不同位点（以字母表示）。水平方向的 *x* 轴（时间）表示完成最大长度的小时数（参考线是孵育大约 18 h）(A ～ D 图由 K. Linask 提供；E 图参考 Spratt 1947)。

在预定中胚层和内胚层细胞向内部运动的同时，外胚层前体进行增殖和迁移，以通过外包将卵黄包围。卵黄被外胚层的包裹（再次回想起两栖类外胚层的外包）是一项极为艰巨的任务，需要大致 4 天才能完成。它包括新的细胞成分的持续产生，以及预定外胚层细胞沿卵黄被的下表面进行迁移（New 1959；Spratt 1963）。有意思的是，只有暗区外部边缘的细胞牢固地附着在卵黄被上。这些细胞与其他胚盘层细胞存在内在的差异，因为它们能向卵黄被延伸出极长的细胞质突起（500 μm）。这些伸长的丝足被认为是边缘细胞的运动器，能使细胞在卵黄周围拉动其他外胚层细胞（Schlesinger 1958）。丝足结合纤连

蛋白（这是卵黄被组分中的一种层蛋白）。如果加入一种与纤连蛋白相似的可溶性多肽，通过实验的方法阻断边缘细胞与纤连蛋白之间的接触，丝足就会缩回，外胚层停止迁移（Lash et al. 1990）。

因此，当鸟类胚胎的原肠胚形成接近尾声时，外胚层已经包裹胚胎，内胚层置换了下胚层，而且中胚层也已将自身置于这两个区域之间。尽管我们已经发现了参与鸟类胚胎原肠胚形成的许多过程，但我们仅仅刚开始理解其中一些过程的分子调节机制。

网络话题 12.3 **上胚层细胞的异质性** 尽管早期上胚层似乎是均一的，但不同的细胞在它们的表面具有不同的分子。这种差异使得一些细胞保留在上胚层，而使另一些迁移进入胚胎。

12.1.3 体轴特化和鸟类的“组织者”

作为头部内中胚层和脊索顺序性建立的结果，原肠胚形成过程中的鸟类（及哺乳类）胚胎呈现出一个明显的前 - 后梯度。当胚胎后部的细胞仍然是原条的一部分并且还在继续进入胚胎时，前端的细胞已经开始形成器官（见 Darnell et al. 1999）。在接下来的几天中，胚胎的前端比后端发育得更快（如果你愿意的话，可以说是“领先”）。尽管鸡胚胎的体轴形成在原肠胚形成期间已经完成，但体轴的特化开始得更早，在卵裂过程中就已经开始。

12.1.3.1 重力的作用和后缘区

放射对称的胚盘层被转变成一个两侧对称的结构似乎受重力的决定。当卵经过母鸡的生殖道时，它在壳腺中被旋转大约 20 h。差不多每小时 15 转的旋转将卵黄中一些较轻的成分（可能含有一些被储存起来而用于发育的母体决定物）移动到胚盘层一侧的下部。这种失衡使胚盘层的一端倾斜，而且那一端将变成后缘区，就是原条形成起始的位置（图 12.9；Kochav and Eyal-Giladi 1971；Callebaut et al. 2004）。

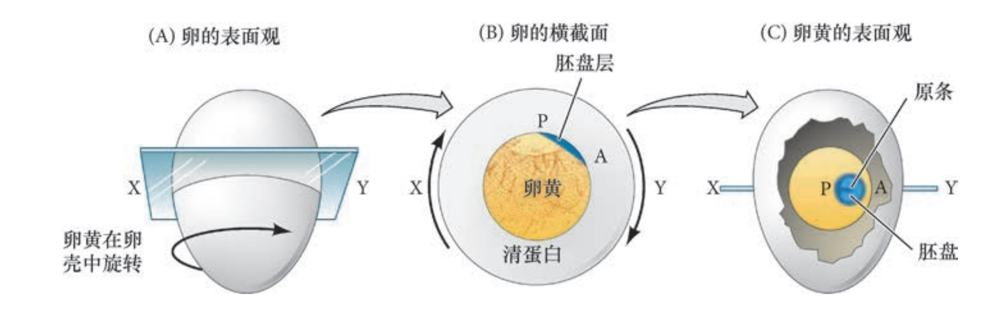


图 12.9 重力对鸡胚胎前 - 后轴的特化。在壳腺中的旋转（A）导致卵黄中更轻的成分将胚盘层的一边向上推起（B）。（C）被抬起的区域变成胚胎的后部。P，后部；A，前部（参考 Wolpert et al. 1998）。

目前尚不清楚是什么样的相互作用使胚盘层的这一特异区域变成后缘区。在早期，整个边缘区都具有起始原条形成的能力。如果将胚盘层分成两个部分，每一部分都能形成一个边缘区，并且每一部分都能形成一个原条（Spratt and Haas 1960；Bertocchini and Stern 2012）。然而，一旦后缘区形成，它就控制边缘的其他区域。后缘区的细胞不仅起始原肠胚形成，它们还抑制边缘的其他区域形成原条（Khaner and Eyal-Giladi 1989；Eyal-Giladi et al. 1992；Bertocchini et al. 2004）。

现在看起来已经清楚，后缘区含有一些等同于两栖类 Nieuwkoop 中心的细胞。如果把后缘区组织（Koller 镰形区及其后部）移植到边缘区的前部，它能够诱导原条和亨氏结，但不向任何一个结构贡献细胞（Bachvarova et al. 1998；Khaner 1998）。目前的证据已经显示，整个边缘区都表达 Wnt8c（能够诱导 β- 联蛋白的积累），并且像两栖类的 Nieuwkoop 中心一样，后缘区的细胞分泌 Vg1—— 一个转化生长因子 -β 家族的成员（Mitrani et al. 1990；Hume and Dodd 1993；Seleiro et al. 1996）。

Wnt8c 和 Vg1 共同作用，在靠近 Koller 镰形区和后缘区的未来胚胎上胚层中诱导 Nodal（另一个转化生长因子 -β 分泌蛋白）的表达（Skromne and Stern 2002）。因此，这一图式似乎与两栖类胚胎中的情况相似。

最近的研究显示，Nodal 的活性对起始原条形成是必需的，初级下胚层细胞分泌的 Cerberus（一个 Nodal 拮抗剂）能阻止原条的形成（Bertocchini et al. 2004；Voiculescu et al. 2014）。当初级下胚层细胞离开后缘区时，Cerberus 蛋白在这个区域就不再表达，这就使 Nodal 在后部上胚层发挥作用（并因此使原条形成）。然而，一旦原条形成，它也分泌自身的 Nodal 拮抗剂——Lefty 蛋白，由此抑制其他原条的形成。最终，分泌 Cerberus 的下胚层细胞被推向胚胎的未来前部，在那里，它们保护这一区域的神经细胞变成前脑，而不是神经系统更后部的结构[2]。

12.1.3.2 左 - 右轴的形成

脊椎动物的躯体具有明确的左侧和右侧。例如，心脏和脾通常位于身体的左侧，而肝通常在右侧。两侧的区分主要受控于表达在左侧的两个蛋白质——旁分泌因子 Nodal 和转录因子 Pitx2。然而，*Nodal* 基因的表达在身体左侧被激活的机制在不同的脊椎动物类群中有所不同。由于鸡胚胎易于操作，因此，相对于其他脊椎动物，科学家们能够更容易地阐明鸟类左 - 右轴决定的途径。

当原条达到最大长度时，*Sonic hedgehog*（*Shh*）基因的表达开始被限制在胚胎的左侧，这受控于激活蛋白及其受体（**图 12.10A**）。激活蛋白信号与骨形态发生蛋白 -4 共同在胚胎的右侧阻断 Sonic hedgehog 蛋白的表达并激活成纤维细胞生长因子 -8 蛋白的表达。成纤维细胞生长因子 -8 在右侧抑制旁分泌因子 Cerberus 的表达；它也可能激活一个指令中胚层形成右侧结构的信号级联（Schlueter and Brand 2009）。

与此同时，在身体的左侧，Shh 蛋白激活 Cerberus（**图 12.10B**），并且也与骨形态发生蛋白共同促进 Nodal 蛋白的表达（Yu et al. 2008）。Nodal 激活 *Pitx2* 基因，同时抑制 *Snail*。此外，在腹部中线的 Lefty1 阻止 Cerberus 信号扩散到胚胎的右侧（**图 12.10C，D**）。像非洲爪蛙一样，Pitx2 对产生胚胎结构的不对称

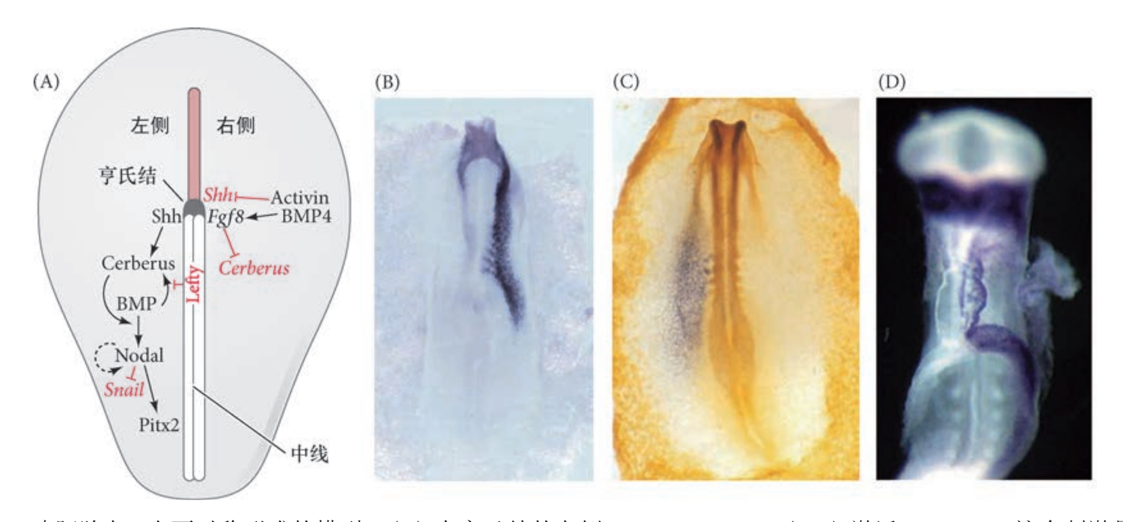


图 12.10 鸡胚胎左 - 右不对称形成的模型。（A）在亨氏结的左侧，Sonic hedgehog（Shh）激活 Cerberus，这会刺激骨形态发生蛋白（BMP）诱导 Nodal 的表达。Nodal 激活 *Pitx2* 基因。Pitx2 蛋白在不同器官原基中具有活性，并特化胚胎的左侧。在胚胎的右侧，激活蛋白（Activin）与激活蛋白受体 -IIa 共同表达。这样就会激活成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8），这个蛋白质能抑制 *Cerberus* 基因的表达。如果没有 Cerberus，Nodal 就不会被激活，因此 Pitx2 也不表达。（B）*Cerberus* 的 mRNA 的整体原位杂交。这里显示从腹部表面（“从下面”，因此表达位置看起来像是在右侧）观察的效果。从背部观察，这个表达应该在左侧。（C）鸡 *Nodal* 信使（染成紫色）的整体原位杂交显示它只表达在胚胎左侧的侧板中胚层。此处显示背部观。（D）类似地，整体原位杂交显示 *Pitx2* 表达在更晚时期胚胎。此处显示腹面观。在这一时期，心脏正在形成，可见 *Pitx2* 表达在心管的左侧（以及对称表达在更前部的组织）（A 图参考 Raya and Izpisua-Belmonte 2004；B 图来自 Rodriguez-Esteban et al. 1999，由 J. Izpisúa-Belmonte 提供；C 图由 C. Stern 提供；D 图来自 Logan et al. 1998，由 C. Tabin 提供）。

[2] 如果在同一个胚盘中有两个 Nodal 的表达区域，就可能形成联体胚胎。利用鸡胚胎进行实验，通过分泌 Vg1 的后部细胞来解除对 Nodal 的抑制，在同一个胚盘上能形成两个体轴（Bertocchini et al. 2004）。如果在哺乳动物中抑制 Nodal 的拮抗剂，也能形成多个体轴（Perea Gomez et al. 2002）。

性有关键作用。用实验手段在鸡胚胎的右侧诱导 Nodal 或者 Pitx2 的表达可使不对称性反转，或者导致左右不对称性的随机化[3]（Levin et al. 1995；Logan et al.1998；Ryan et al. 1998）。

一个真正的谜团是什么过程造成了 Shh 和成纤维细胞生长因子 -8 的初始不对称？在鸡胚胎中的一个重要观察结果显示，在鸡亨氏结形成过程中首先出现的不对称是表达成纤维细胞生长因子 -8 和 Shh 的细胞进行自身重排，在亨氏结的右侧汇集（Cui et al. 2009；Gros et al. 2009）。因此，基因表达的差异可以追溯到细胞向左侧和向右侧迁移的差异。建立这种初始不对称的机制仍不清楚，但有可能是原结周围细胞的物理位移（Tsikolia et al. 2012；Otto et al. 2014）。

12.2 哺乳动物的早期发育

12.2.1 卵裂

哺乳动物的卵是动物界最小的卵，这使它们难以用来进行实验操作。例如，人类合子的直径只有 100 μm，体积小于非洲爪蟾卵的千分之一，肉眼几乎看不到。而且，哺乳动物产生的合子的数量也无法与海胆或蛙的合子相比。哺乳动物的一个雌性每次产卵的数量通常少于 10 个，因此很难获得足够的材料用于生化研究。最后一个障碍是，哺乳动物的发育是在另一个个体的内部完成，而不是在外部环境中（尽管植入之前的早期胚胎可以在体外培养和观察）。由于小鼠相对易于繁育、每窝幼崽的数量较多、容易在室内条件下饲养，因此对哺乳动物发育的研究大都集中在小鼠。

12.2.1.1 哺乳类卵裂的独特特性

在受精之前，包裹在卵丘细胞中的卵母细胞从卵巢中释放出来，被输卵管伞卷入输卵管（**图 12.11**）。受精发生在输卵管的**壶腹**（**ampulla**）——一个靠近卵巢的区域。在精子进入后，卵完成减数分裂，大约一天后开始第一次卵裂（见图 7.32）。第一次卵裂面的定位可能依赖于精子的入卵点（Piotrowska and Zernicka-Goetz 2001）。在小鼠中，精子携带的一个微 RNA（miRNA-34c）对起始第一次卵裂是必需的。这个微 RNA 可能结合并抑制 Bcl-2——一个阻止细胞进入细胞周期的 S 期的蛋白质（Liu et al. 2012）。这次卵裂产生的两个细胞核是最早含有完整基因组的细胞核，因为单倍体原核在相遇时进入细胞分裂（见第 7 章）。

哺乳动物的卵裂在动物界最为缓慢，需要 12 ～ 24 h。输卵管中的纤毛将胚胎推向子宫，在这一旅程中发生第一次卵裂。除了细胞分裂缓慢，哺乳动物的卵裂还具有另外几个特征，包括卵裂球彼此之间相

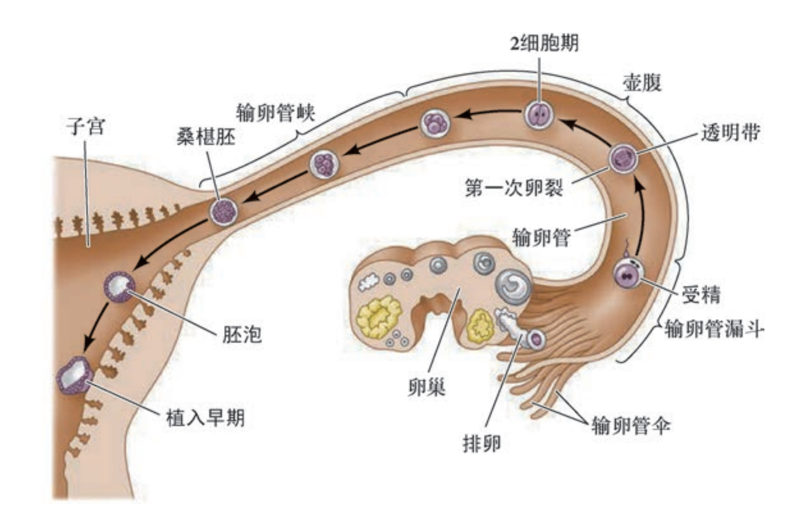


图 12.11 人类胚胎从受精到植入期间的发育。人胚胎的致密化发生在第 4 天的 10 细胞期。一旦到达子宫，胚胎从透明带中“孵化”出来。在胚胎向子宫的迁移过程中，透明带可以阻止胚胎过早地黏附在输卵管上而无法到达子宫。

[3] 在人类，*PITX2* 的纯合突变导致 Rieger 综合征，这是一种以不对称异常为特征的状况。在小鼠中敲除 *Pitx2* 基因也导致类似状况的发生（Fu et al. 1998；Lin et al. 1999）。

对位置的独特定向。在许多但不是所有的哺乳动物胚胎中，第一次卵裂是正常的经向卵裂；但在第二次卵裂中，其中一个卵裂球进行经向分裂，而另一个进行纬向分裂（图 12.12；Gulyas 1975）。这被称为**旋转卵裂**（**rotational cleavage**）。

哺乳动物的卵裂与其他大多数胚胎的卵裂之间的另一个主要区别是早期细胞分裂的显著不同步性。哺乳动物的卵裂球并不在同一时间分裂。因此，哺乳动物胚胎不是通过从 2 到 4、再到 8 那样以指数的方式增加卵裂球数量，而是经常含有奇数的细胞。此外，与快速发育动物的基因组不同，哺乳类的基因组在早期卵裂时即被激活，合子转录后翻译的蛋白质是卵裂和发育所必需的。母体编码的蛋白质在卵裂期能持续很长的时间，并在早期发育中起重要作用。在小鼠和羊，合子（也就是细胞核）基因的激活起始于合子晚期并延续到 2 细胞期（Zeng and Schultz 2005；Rother et al. 2011）。在人类，合子基因的激活稍晚，大致在 8 细胞期（Piko and Clegg 1982；Braude et al. 1988；Dobson et al. 2004）。

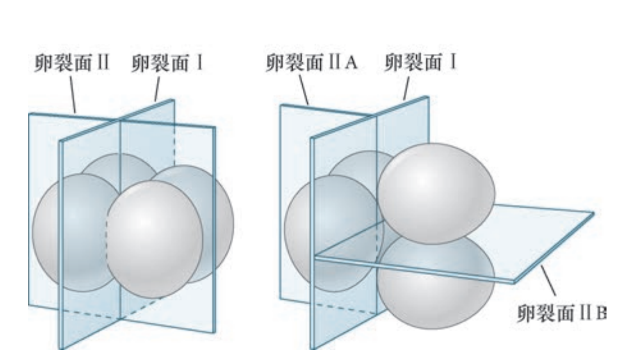


图 12.12　不同动物类群的早期卵裂。(A) 棘皮动物和两栖类（辐射卵裂）。(B) 哺乳动物（旋转卵裂）。线虫也具有旋转形式的卵裂，但它们不形成具有哺乳动物特征的胚泡结构（参考 Gulyas 1975）。

为了使合子基因激活，父源染色质经历了许多变化。新的组蛋白在早期细胞分裂过程中被添加到 DNA，配子特异的 DNA 甲基基团被去除（除了那些印记基因上的甲基；见第 3 章）。在小鼠和人的胚胎中，精子和卵子染色质上的 DNA 甲基化修饰几乎被全部去除。虽然一些“印记”基因的甲基化修饰依然被保留，那些与分化相关的修饰似乎都被去除。这使新形成的胚泡细胞几乎成为一张“白纸”。这样就建立起赋予全能性或多能性细胞特征的一些新的 DNA 甲基化图式（Abdalla et al. 2009；Guo et al. 2014；Smith et al. 2014）。因此，在 16 细胞期，每个细胞的基因组都处在低甲基化的状态，并且每个细胞都具有多能性（Tarkowski et al. 2010）。这一时期为细胞开始分化做好了准备。

12.2.1.2　致密

哺乳类卵裂最关键的事件之一是**致密**（**compaction**）。一直到 8 细胞期，小鼠胚胎的卵裂球都呈现出一种松散的排布（图 12.13A ~ C）。然而，在第三次卵裂之后，卵裂球的行为经历了一个显著的变化。例如，细胞黏附蛋白上皮钙黏素开始表达，卵裂球逐渐拥挤在一起，形成一个紧实的细胞球（图 12.13D；

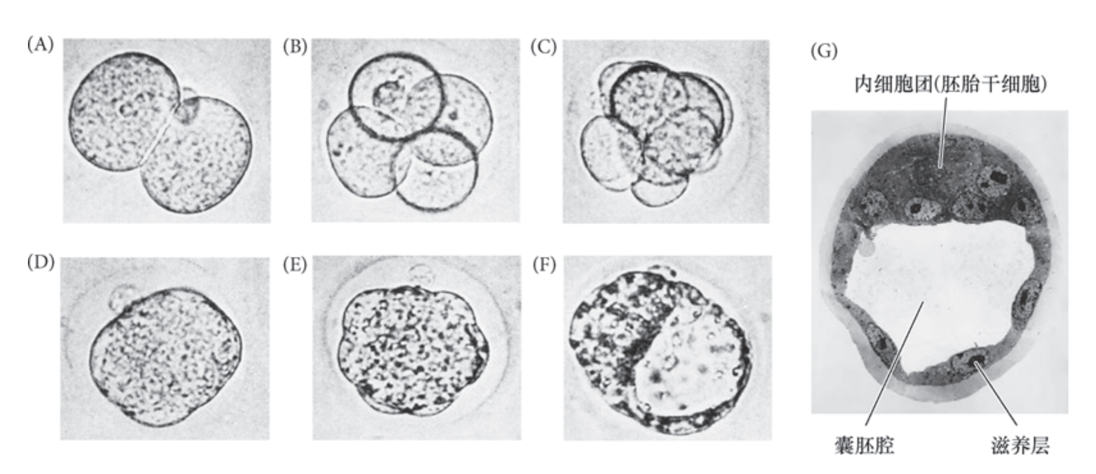


图 12.13　小鼠胚胎在体外的卵裂。(A) 2 细胞期。(B) 4 细胞期。(C) 早期 8 细胞期。(D) 致密的 8 细胞期。(E) 桑椹胚。(F) 胚泡。(G) 经过小鼠胚泡中央的电子显微镜照片（A ~ F 图来自 Mulnard 1967，由 J. G. Mulnard 提供；G 图来自 Ducibella et al. 1975，由 T. Ducibella 提供）。

Peyrieras et al. 1983；Fleming et al. 2001）。这一紧密的排列被外部细胞之间形成的紧密连接进一步稳定，因此封闭了细胞球的内部。细胞球内部的细胞形成缝隙连接，因而能使一些小分子和离子在它们之间通过。

致密的 8 细胞胚胎继续卵裂，产生一个 16 细胞的胚胎（图 12.13E），称为**桑椹胚**（**morula**）。桑椹胚由一小组内部细胞和一大组环围在外部的细胞组成（Barlow et al. 1972）。外部细胞的大部分后代细胞变成**滋养层**（**trophoblast**）细胞或滋养外胚层（trophectoderm），而内部细胞形成**内细胞团**（**inner cell mass，ICM**）。形成胚胎本体的内细胞团被定位在滋养层细胞环的一侧；**胚泡**（**blastocyst**）的形成是哺乳类卵裂的另一个特征（图 12.13F，G；见图 5.5）。

滋养层细胞不产生胚胎结构，但形成绒毛膜组织，这是使胎儿从母体获得氧和营养的胚外膜及胎盘的一部分。绒毛膜也分泌一些激素，使得母体的子宫能够存留胎儿；它也产生一些免疫反应的调节物，使得母体对胚胎不产生排斥。

重要的是要记住胚胎早期细胞分裂的一个关键结果就是产生了使胚胎能与子宫附着的细胞。因此，滋养层的形成是哺乳动物发育的首个分化事件。最早的卵裂球（如 2 细胞胚胎的每个卵裂球）都可以形成滋养层细胞和内细胞团的胚胎前体细胞。这些非常早期的细胞被认为具有**全能性**（**totipotent**；拉丁语，“能做所有事情”）。内细胞团被认为具有**多能性**（**pluripotent**；拉丁语，“能做很多事情”）。也就是说，内细胞团的每个细胞可以产生身体的任何细胞类型，但不能形成滋养层。内细胞团中的这些多能性细胞是胚胎干细胞（见第 5 章）。

观察发育 12.1 来自体外受精专科医院的两个哺乳动物发育视频，显示早期发育的动态。

12.2.1.3 滋养层或者内细胞团？你生命中的首个选择

哲学家和神学家 Søren Kierkegaard 写到：“我们用我们自己的选择来界定自己”。看来胚胎早已深谙此道。成为滋养层还是成为内细胞团是哺乳动物生命中的第一个二元选择。在发育的后期，细胞必须失去它们的多能性并决定它们的去向。在第一个选择中，Oct4 和 Cdx2 的表达彼此抑制，使一些细胞成为滋养层，或使另一些细胞成为内细胞团的多能性细胞。在第二个选择中，内细胞团的每个细胞，或者表达 Nanog，或者表达 Gata6（Ralston and Rossant 2005；Rossant 2016），由此维持它们的多能性（Nanog）或者成为原始内胚层（Gata6）。

在胚泡形成之前，每个卵裂球都表达 Cdx2 和 Oct4 这两个转录因子（Niwa et al. 2005；Dietrch and Hiiragi 2007；Ralston and Rossant 2008），而且具有形成内细胞团或者滋养层的能力（Hiiragi and Solter 2004；Motosugi et al. 2005；Kurotaki et al. 2007）。然而，一旦做出了成为滋养层或者内细胞团的决定，细胞就表达一系列区域特异性基因。内细胞团的多能性由 Oct4、Sox2 和 Nanog 这三个转录因子所组成的调控核心来维持。这些蛋白质与自身基因的增强子结合以维持它们的表达，同时也激活彼此的增强子（图 12.14）。因此，如果其中一个基因被激活，其他基因也会被激活。Sox2 与 Oct4 协同作用，形成二聚体，并且经常在一些增强子上与 Nanog 邻近，激活维持多能性所需的基因并抑制引起分化的基因（Marson et al. 2008；Young 2011）。这些转录因子将 RNA 聚合酶 II 招募到被激活的基因的启动子上，同时把组蛋白甲基转移酶招募到被抑制的基因的启动子上（Kagey et al. 2010；Adamo et al. 2011）。

只有滋养层细胞合成转录因子 Cdx2，而 Cdx2 下调 Oct4 和 Nanog（Strumpf et al. 2005）。在滋养层细胞中，*Cdx2* 基因的激活可能受 Yap 蛋白调节，而 Yap 又是转录因子 Tead4 的辅因子（图 12.15A）。Tead4 蛋白在胚泡的内部和外部细胞核中都表达，但它仅在外部区域被 Yap 激活。这是因为在外部细胞中 Yap 能够进入细胞核，因此使 Tead4 能激活滋养层特异基因的转录，如 *Cdx2* 和 *eomesodermin*（*Eomes*）。相反，每个内部细胞的表面都被其他细胞包围，这些细胞激活 *Lats* 基因，而 Lats 蛋白是一个能将 Yap 磷酸化的蛋白激酶（图 12.15B）。磷酸化的 Yap 无法进入细胞核，而后被降解（Nishioka et al. 2009）。因此，在内

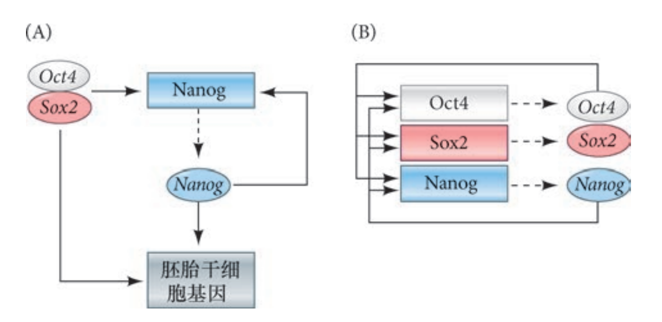


图 12.14 胚胎干细胞多能性的核心转录调控回路。(A) Oct4/Sox2 二聚体激活 *Nanog* 基因的前馈回路，而后 Nanog 蛋白激活自身的基因及其他促进多能性的基因。(B) 彼此连接的调控回路，其中 Oct4、Sox2 和 Nanog 都激活自身的基因，也激活彼此的基因（参考 Boyer et al. 2005）。

拓展性问题

我们一直在讨论真哺乳亚纲的哺乳动物，也就是在发育期间将胚胎保留在体内的动物，如小鼠和人。但是在产卵的单孔类哺乳动物（如鸭嘴兽），或者是在只有极短孕期的有袋类哺乳动物（如袋鼠）中的情形是怎样的呢？它们的胚胎是否也有胚泡？

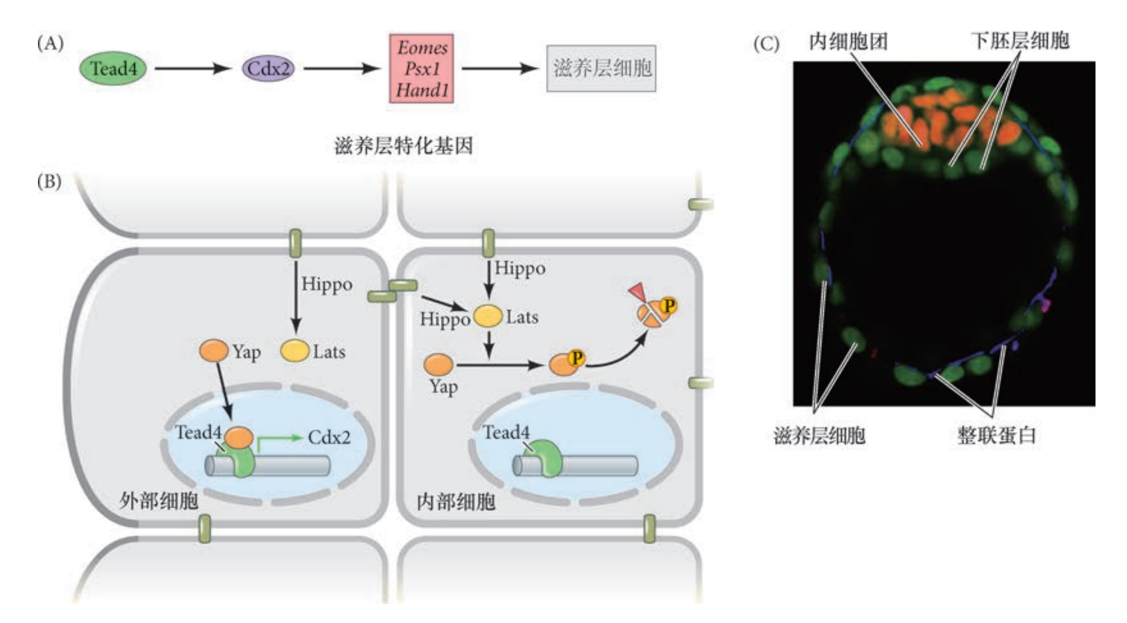


图 12.15 起始内细胞团和滋养层之间差异的可能途径。(A) 转录因子 Tead4 的活性促进 *Cdx2* 基因的转录。Tead4 和 Cdx2 共同激活一些将外部细胞特化为滋养层的基因。(B) Tead4 活化的模型。在外部细胞中，因为没有其他细胞包围胚胎，这样就出现了一个阻止 Hippo 途径激活 Lats 蛋白的信号（迄今未知）。在 Lats 没有功能的情况下，辅转录因子 Yap 与 Tead4 结合，激活 *Cdx2* 基因。在内部细胞中，Hippo 途径具有活性，Lats 激酶将 Yap 磷酸化。磷酸化形式的 Yap 不能进入细胞核，从而被降解。(C) 小鼠的胚泡，内细胞团表达的 Oct4 被染成橙色。胚外谱系（滋养层和下胚层）被染成绿色（A 图和 B 图参考 Nishioka et al. 2009；C 图由 J. Rossant 提供）。

部细胞中，Tead4 不能发挥功能，因此 *Cdx2* 不被转录（见 Wu and Scholer 2016）。Cdx2 抑制 Oct4 的表达，同时 Oct4 抑制 Cdx2 的表达。这两个细胞谱系以这种方式被分隔开来。

网络话题 12.4 **致密的机制和内细胞团的形成** 是什么因素决定了一个细胞成为滋养层细胞还是成为内细胞团的一员？这也许只是一个偶然事件。然而，一旦做出选择，不同的基因就会被开启。

在小鼠中，胚胎本体来源于 16 细胞期胚胎的内细胞团，在向 32 细胞期过渡时，桑椹胚外部细胞的分裂为内细胞团提供补充（Pedersen et al. 1986；Fleming 1987；McDole et al. 2011）。内细胞团的细胞形成胚胎，以及相连的卵黄囊、尿囊和羊膜。到 64 细胞期，内细胞团（这个时期大约由 13 个细胞组成）和滋养层细胞已经变成独立的细胞层，互相不为对方贡献细胞（Dyce et al. 1987；Fleming 1987）。内细胞团

活跃地支持滋养层，分泌一些刺激滋养层细胞分裂的蛋白质（Tanaka et al. 1998）。

最初，桑椹胚的内部并不具有空腔。然而，在一个称为**空腔形成**（**cavitation**）的过程中，滋养层细胞分泌液体进入桑椹胚，形成囊胚腔。滋养层细胞具有钠离子泵（一种 Na^+-K^+ ATP 酶和 Na^+-H^+ 交换泵），将钠离子泵入中间的空腔。这样产生的钠离子积累由于渗透压的原因将水吸收进来，形成囊胚腔并使之扩大（Borland 1977；Ekkert et al. 2004；Kawagishi et al. 2004）。有意思的是，胚胎在输卵管细胞上向子宫移动时，输卵管细胞似乎能刺激这种钠离子泵的活性（Xu et al. 2004）。随着囊胚腔的扩大，内细胞团开始定位于滋养层细胞环的一侧，形成独特的哺乳动物胚泡[4]。

12.2.1.4 从透明带脱离和植入

胚胎在经过输卵管前往子宫的途中，胚泡在透明带中扩张。透明带是卵的细胞外基质，在受精过程中对精子的结合至关重要（见第 7 章）。在此期间，透明带阻止胚泡与输卵管壁的黏附。这种黏附（有时在人中发生）会导致异位怀孕，或者“输卵管”怀孕（这是一种危险的状况，因为胚胎开始在输卵管中生长时将会引起危及生命的出血）。当胚胎到达子宫时，它必须从透明带中“孵化”出来，这样才能够黏附在子宫壁上。

小鼠的胚泡从透明带上消化出一个小孔后，随着扩张从小孔中挤出而孵化（图 12.16A）。滋养层分泌的一种胰蛋白酶样的蛋白酶可能参与这个过程（Perona and Wassarman 1986；O’Sullivan et al. 2001）。一旦从透明带中孵化出来，胚泡就能与子宫直接接触（图 12.16B，C）。雌激素和孕酮激素改变了**子宫内膜**（**endometrium**），也就是子宫的上皮衬里，使它形成了大量的细胞外基质以“捕获”胚泡。这种细胞外基质由复糖、胶原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白、钙黏着蛋白、透明质酸及硫酸乙酰肝素受体组成（见 Ramathal et al. 2011；Tu et al. 2014）。

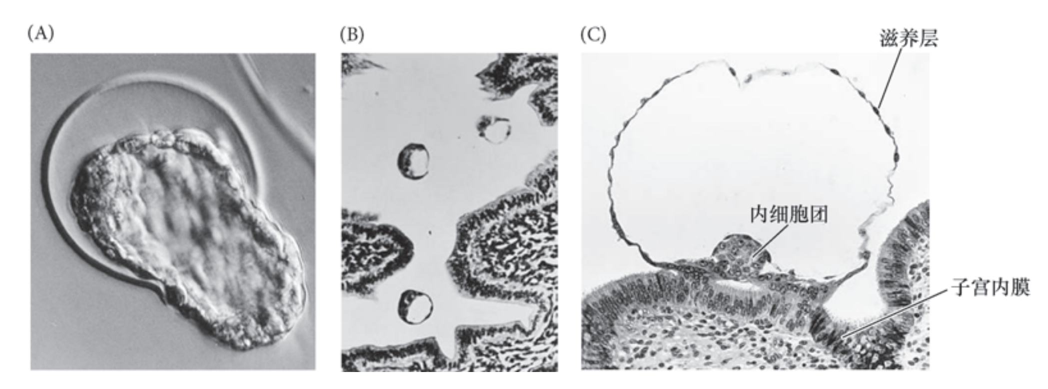


图 12.16 哺乳动物胚泡从透明带的孵化及在子宫内的植入。（A）小鼠胚泡从透明带孵化出来。（B）小鼠胚泡进入子宫。（C）猕猴胚泡的初期植入（A 图来自 Mark et al. 1985，由 E. Lacy 提供；B 图来自 Rugh 1967；C 图来自 Carnegie Institution of Washington 的摄影家 Chester Reather）。

在初始的结合之后，其他几种黏附体系似乎相互协调以维持胚泡与子宫壁的紧密结合。滋养层细胞合成整联蛋白，与子宫的胶原蛋白、纤连蛋白及层粘连蛋白结合，而且在植入之前，它们准时地合成硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（见 Carson et al. 1993）。滋养层和子宫内膜上的胎盘钙黏素（见第 4 章）也帮助胚胎在子宫壁上的锚定。胚胎一旦与子宫内膜接触，Wnt 蛋白（来自滋养层、子宫内膜或者两者）指令滋养层分泌一系列蛋白酶，包括胶原蛋白酶、溶基质蛋白酶及纤维蛋白溶酶原激活物。这些蛋白消化酶降解子宫组织的细胞外基质，使得胚泡能将自身埋在子宫壁中（Strickland et al. 1976；Brenner et al. 1989；Pollheimer et al. 2006）。

---

[4] 尽管哺乳动物的胚泡是 Rauber 在 1881 年发现的，但有关胚泡最早的公众展示可能出自 1907 年 Gustav Klimt 所创作的画作 *Danae*。在这幅画中，被宙斯受孕的女主人公的长袍上点缀着胚泡状的图案（Gilbert and Braukmann 2011）。

12.2.2 哺乳动物的原肠胚形成

鸟类和哺乳类都是爬行类（尽管是不同的爬行类）的后代。因此，哺乳类动物的发育平行于爬行类和鸟类的发育并不令人感到惊讶。但令人惊讶的是，为了适应富含卵黄的卵而进化出来的爬行类和鸟类原肠胚形成运动依然被哺乳动物胚胎保留，即便是哺乳动物的卵不具有大量的卵黄。可以设想，哺乳动物的内细胞团是在一个虚构的卵黄球之上，遵循一些似乎更适于其爬行类祖先的指令。

12.2.2.1 在另一个生物体内进行发育而发生的变化

哺乳动物胚胎直接从母体获取营养，而不是依赖于储存的卵黄。这一适应既使母体的解剖结构发生了剧烈的重构（如输卵管扩大后形成子宫），也发育出一个能从母体获取营养的胎儿器官。**图 12.17** 总结

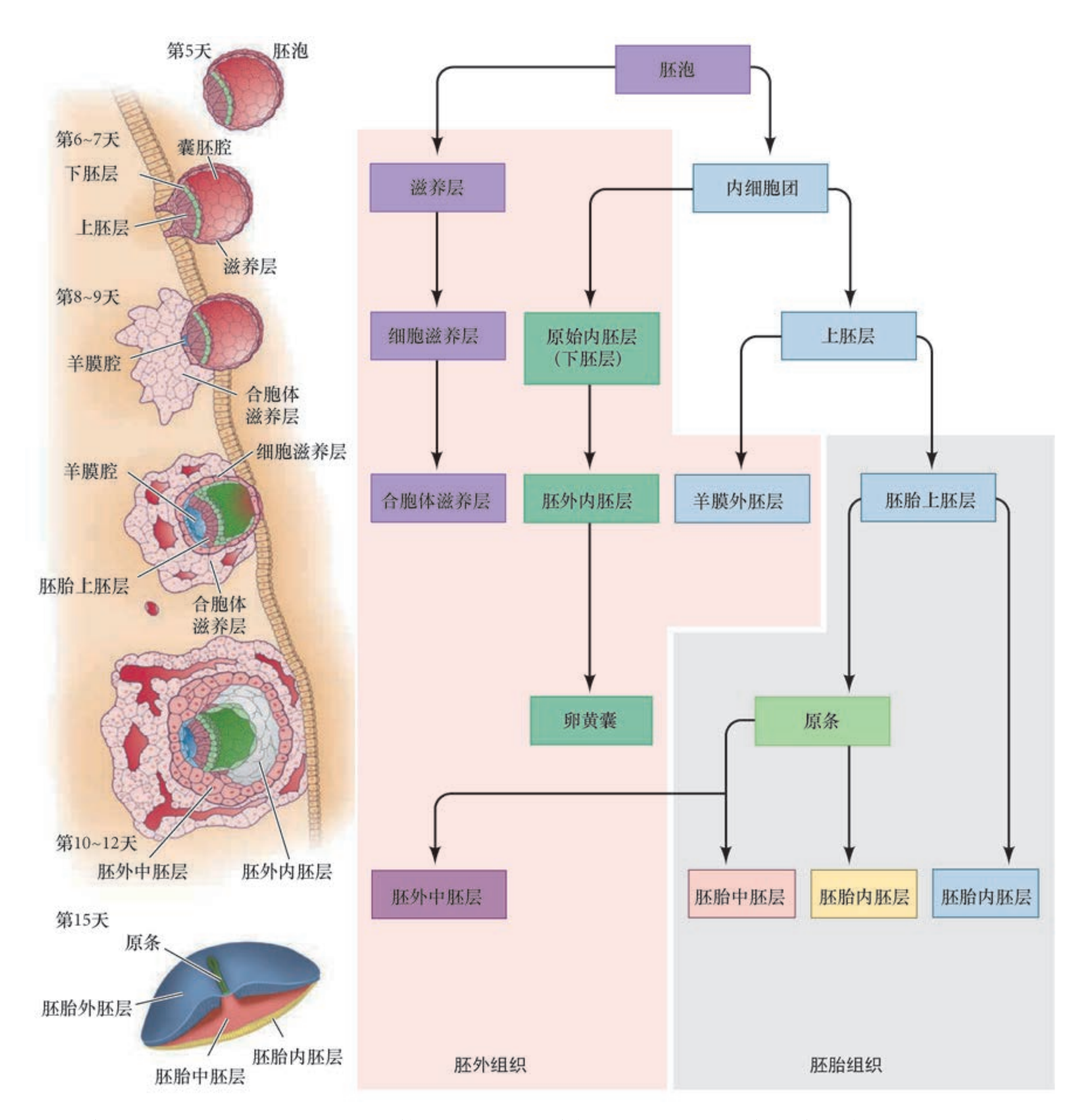


图 12.17 人类早期胚胎的组织和胚层形成。第 5 ～ 9 天：胚泡植入。内细胞团使接触囊胚腔的下胚层细胞进行分层，形成原始卵黄囊的胚外内胚层和一个双层（上胚层和下胚层）的胚盘。第 10 ～ 12 天：滋养层分为将要形成绒毛的细胞滋养层，以及将要内移进入子宫组织以形成绒毛膜的合胞体滋养层。第 12 ～ 15 天：原肠胚形成和原条形成。与此同时，上胚层分裂成羊膜外胚层（包围羊膜腔）和胚胎上胚层。哺乳动物的成体（外胚层、内胚层、中胚层和生殖细胞）由胚胎上胚层的细胞形成。胚外内胚层形成卵黄囊。

了哺乳动物早期组织的来源。如我们在前面所述，最早的区别出现在内细胞团和滋养层之间。滋养层经过几个阶段的发育后最终变成绒毛膜，也就是胎盘中来源于胚胎的部分。滋养层细胞也诱导母体的子宫细胞形成胎盘的母体部分，即**蜕膜**（**decidua**）。蜕膜具有丰富的血管，为胚胎提供氧和营养成分。内细胞团形成上胚层和下胚层（初级内胚层）。下胚层细胞将形成卵黄囊细胞，而上胚层将产生胚胎、羊膜和尿囊。

原始内胚层：哺乳动物的下胚层 内细胞团中细胞的首次隔离形成两层细胞。下面一层与囊胚腔接触，称为**原始内胚层**（**primitive endoderm**），与鸡胚胎的下胚层是同源的。位于上面的其他内细胞团组织是上胚层。原始内胚层将形成胚胎的卵黄囊，而且像鸡的下胚层一样，将被用于定位原肠胚形成的位点、调节上胚层的细胞运动，以及促进血细胞的成熟。此外，像鸡的下胚层一样，原始内胚层是一个胚外层，并不为胚胎本体提供多少细胞（如果提供的话）（见 Stern and Downs 2012）。

小鼠胚胎内细胞团的细胞变成上胚层或者原始内胚层可能取决于这个细胞是在何时变成内细胞团的一部分（Bruce and Zernicka-Goetz 2010；Morris et al. 2010）。在 8 细胞期到 16 细胞期分裂时被内化的细胞似乎倾向于变成多能性的上胚层细胞，而在 16 细胞期到 32 细胞期分裂时进入内细胞团的细胞可能产生未来的原始内胚层（图 12.18）。在这个时期，内细胞团的卵裂球在第 4.5 天出现分层前的一整天都处在一个镶嵌的状态，由未来的上胚层细胞（表达促进多能性的转录因子 Nanog）和原始内胚层细胞（表达转录因子 Gata6）组成（Chazaud et al. 2006）。内细胞团中成纤维细胞生长因子信号的水平决定了上胚层或者原始内胚层的最终特性，接收到更高水平的成纤维细胞生长因子的细胞变成原始内胚层（Yamanaka et al. 2010）。

上胚层和原始内胚层形成一个称为**二胚层胚盘**（**bilaminar germ disc**）的结构（图 12.19A）。原始内胚层细胞扩展后，内衬囊胚腔并形成卵黄囊。与上胚层接触的原始内胚层细胞是**脏壁内胚层**（**visceral endoderm**），而与滋养层接触的卵黄囊细胞是**体壁内胚层**（**parietal endoderm**）。上胚层细胞层被一些小缝隙分开，这些缝隙最终合并在一起将胚胎上胚层与形成羊膜的其他上胚层细胞分开。一旦羊膜形成，羊膜腔被**羊水**（**amniotic fluid**）充满。这一分泌物具有减震器的作用，而且能防止发育中的胚胎失水。胚胎上胚层含有形成胚胎本体的所有细胞，在许多方面与鸟类的上胚层相似。

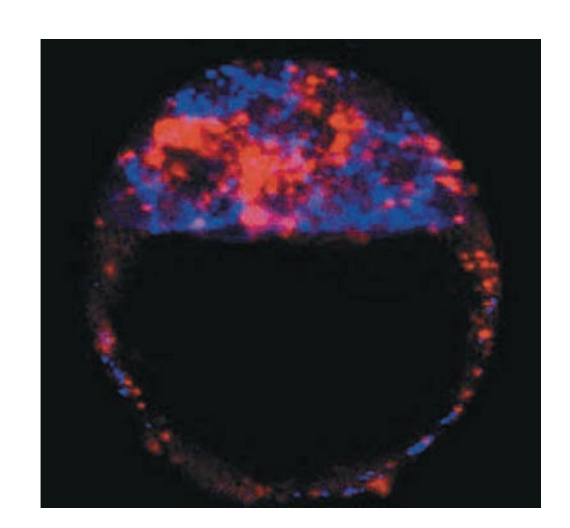


图 12.18 第 3.5 天的小鼠胚胎（早期胚泡），显示 Nanog（蓝色，上胚层）和 Gata6（红色，脏壁内胚层）在内细胞团的随机表达。24 h 后，细胞将各归其类：下胚层细胞与囊胚腔接触，上胚层细胞将位于下胚层细胞和滋养层之间（如图 12.15C 所示）。（由 J. Rossant 提供）。

用辣根过氧化物酶标记上胚层的单个细胞，Kirstie Lawson 和她的同事（1991）建立了小鼠上胚层的详细命运图谱（见图 1.11）。原肠胚形成起始于胚胎的后端，这里也是**原结**[5]（**node**）出现的位置（图 12.19B，C）。像鸡胚胎上胚层细胞一样，哺乳动物的中胚层和内胚层细胞产生于上胚层，这一层细胞进行上皮到间充质转换，失去上皮钙黏素，并作为单个的间充质细胞经过原条进行迁移（Burdsal et al. 1993）。来自原结的那些细胞形成脊索。然而，与鸡胚胎脊索的形成不同，形成小鼠胚胎脊索的细胞被认为是整合在原始消化管的内胚层（Jurand 1974；Sulik et al. 1994）。这些细胞具有纤毛，从原结处向前部延伸，形成一个条带。它们通过向中间汇聚及从肠顶部向背部方向“出芽”而形成脊索。这些发育事件的发生时间在不同哺乳动物中有很大的差异。在人类，中胚层细胞的迁移直到第 16 天才开始，这几乎是小鼠出生的时间（见图 12.19C；Larsen 1993）。

细胞的迁移和特化受成纤维细胞生长因子协调。原条细胞似乎既表达成纤维细胞生长因子，也对成纤维细胞生长因

[5] 在小鼠发育中，亨氏结通常被称为“原结”，尽管亨森（Hensen）在兔和豚鼠胚胎中发现了这一结构。

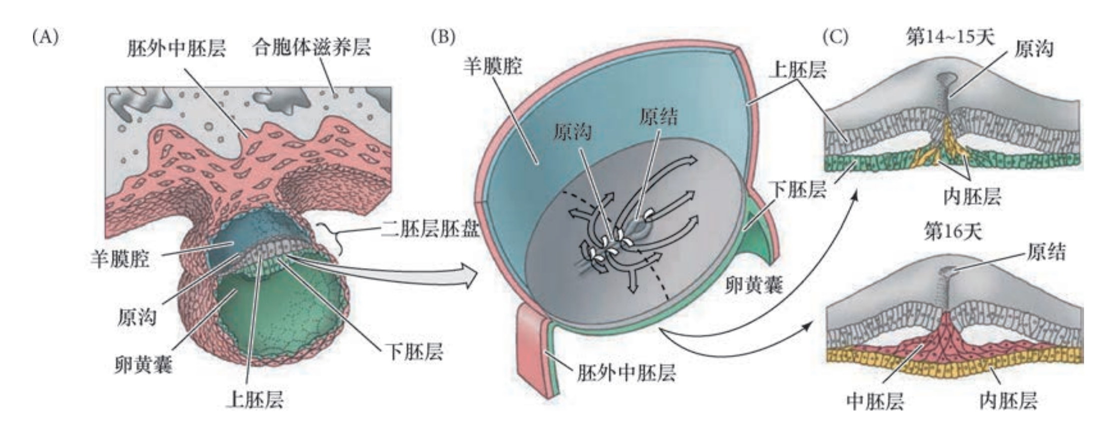


图 12.19　人类胚胎原肠胚形成过程中羊膜的结构和细胞运动。(A，B) 妊娠第 15 天时人胚胎和子宫之间的联系。(A) 通过中线的矢切面。(B) 自胚胎背部表面向下观察的效果图。上胚层细胞经过原条和原结及在上胚层下部的运动被叠加成背部的表面观。(C) 在第 14 天和第 15 天，内移的上胚层细胞置换下胚层细胞（参与形成卵黄囊衬里）；在第 16 天，内移的细胞分散以形成中胚层（参考 Larsen 1993）。

子产生应答 (Sun et al. 1999；Ciruna and Rossant 2001)。在缺失成纤维细胞生长因子 -8 基因或缺失其受体的纯合突变体胚胎中，细胞不能从原条迁移，而且既没有中胚层也没有内胚层的形成。成纤维细胞生长因子 -8（或许还有其他成纤维细胞生长因子）可能通过下调上皮钙黏素，使上胚层细胞不能维持在一起，进而控制细胞进入原条的运动。成纤维细胞生长因子 -8 还可能通过调节 *snail*、*Brachyury* 和 *Tbx6*，从而调节细胞特化，这三个基因对中胚层的迁移、特化和图式化有至关重要的作用（就像它们在鸡胚中的作用一样）。

外胚层的前体位于完全伸展的原条的前部和侧部，像鸡胚胎上胚层（也像鸡胚胎）一样，单个细胞能产生不止一个胚层的后代细胞。因此，在上胚层时期，这些谱系尚未完全彼此分离。的确，在小鼠中，一些曾属于胚外组织的脏壁内胚层能嵌插到定型内胚层，变成肠的一部分 (Kwon et al. 2008)。

科学家讲座 12.2　在两个视频中，Janet Rossant 博士讲述她对小鼠胚胎细胞谱系的研究。

网络话题 12.5　**胎盘的形成和功能**　除了提供营养，胎盘也是一个内分泌和免疫器官，产生一些使子宫维持妊娠状态以及促进母体乳腺发育的激素。最近的研究显示，胎盘利用多种机制阻止母体对发育中胎儿产生免疫反应。

12.2.3　哺乳动物的体轴形成

生物学家、诗人 Miroslav Holub (1990) 曾写道：

在第 5 天和第 10 天之间，干细胞团分化成（小鼠）胚胎及其器官的总体构建蓝图。这与一堆铁变成航天飞机有点类似。实际上这是我们能够想象和接受的最为巨大的奇迹，而同时它又是如此平常，让我们强迫自己去思考这一奇迹的奇妙之处。

这的确很奇妙，而我们也是刚开始发现它竟然是如此令人感到好奇。

12.2.3.1　前 - 后轴：两个信号中心

哺乳类前 - 后轴的形成在小鼠中已经被广泛地研究。然而，小鼠胚胎上胚层的结构与人类不同，它呈杯状而不是盘状。人的胚胎看上去与鸡的胚胎非常相似，而小鼠胚胎却看起来像一个被原始内胚层包裹着的液滴（**图 12.20A**）。

哺乳动物胚胎似乎有两个信号中心：一个在原结（等同于亨氏结及两栖类组织者的躯干部分），另一个在**前部脏壁内胚层 (anterior visceral endoderm，AVE)** 的位置 (Beddington and Robertson 1999；Foley

et al. 2000)。原结似乎参与神经诱导及大部分前 - 后轴的图式化，而前部脏壁内胚层对原条的定位有至关重要的作用（见 Bachiller et al. 2000)。

起始原条形成的信号可能来自滋养层形成的胚外外胚层与上胚层之间的相互作用。来自胚外外胚层的骨形态发生蛋白 -4 指令相邻的上胚层细胞产生 Wnt3a 和 Nodal。然而，通过分泌 Lefty-1、Dickkopf 和 Cerberus 这些拮抗剂，前部脏壁内胚层阻止 Wnt3a 和 Nodal 对胚胎前部产生影响（图 12.20B；Brennan et al. 2001；Perea-Gomez et al. 2001；Yamamoto et al. 2004)。像两栖类胚胎一样，前部区域被保护，不受 Wnt 信号的影响。因此，Wnt3a 在上胚层的后部细胞而不是在前部细胞中激活 *Brachyury* 基因，产生中胚层细胞 (Bertocchini et al. 2002；Perea-Gomez et al. 2002)。原结在形成后分泌 Chordin，之后，头突和脊索表达头蛋白。缺失这两个基因的小鼠没有前脑、鼻和其他面部结构。

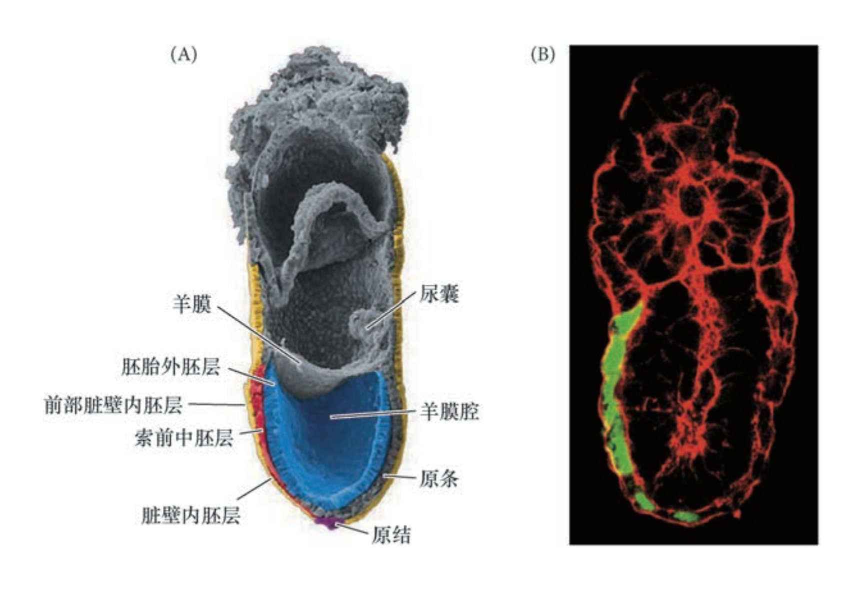


图 12.20 小鼠胚胎体轴和脊索的形成。(A) 在第 7 天的小鼠胚胎中，上胚层（胚胎外胚层）的背部表面与羊膜腔接触。上胚层的腹部表面与新形成的中胚层接触。在这种杯状的排列中，内胚层包裹胚胎的表面。原结位于杯的底部，并且已经形成了脊索中胚层。两个信号中心，也就是原结和前部脏壁内胚层 (AVE)，分别位于杯的两侧。最终脊索将把它们联系起来。胚胎的尾部以尿囊为标记。(B) 激光共聚焦荧光照片显示 *Cerberus* 基因（与绿色荧光蛋白的基因融合）的表达。在这个时期，合成 Cerberus 的细胞正在向脏壁内胚层的最前部区域迁移 (A 图由 K. Sulik 提供；B 图由 J. Belo 提供)。

那么小鼠的前部脏壁内胚层是如何形成的？答案竟然出乎预料。前部脏壁内胚层，伴随着哺乳动物的前 - 后轴，似乎是通过一个环境力量——子宫的形状——而产生的。子宫限制胚胎只能在一个方向上生长。这种“向下”拉伸破坏了细胞外基质，并在最远端的上胚层细胞中诱导新基因的表达（图 12.21)。这些新表达的基因产物使细胞向前部迁移后变成前部脏壁内胚层。Hiramatsu 及其同事 (2013) 发现，如果一个胚胎在不受限制的腔室中生长，那么就不会形成前 - 后轴。因此，子宫产生的机械力对引导正常发育是至关重要的。

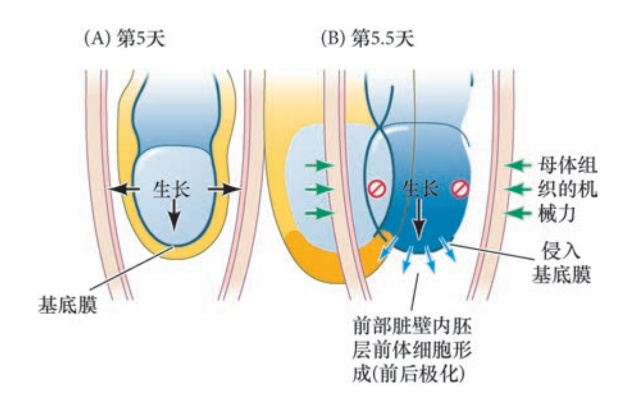


图 12.21 机械力产生前部脏壁内胚层前体细胞。(A) 在发育的第 5 天，胚胎的生长不受子宫形状的限制，能在几个方向上生长。(B) 大约 12 h 后，胚胎的生长开始受限，只能在近 - 远方向上生长。远端区域的基底膜被破坏，上胚层细胞进入脏壁内胚层（蓝色箭），形成前部脏壁内胚层的前体（参考 Hiramatsu et al. 2013)。

12.2.3.2 成纤维细胞生长因子和视黄酸梯度调节前 - 后图式化

哺乳动物胚胎的头部区域没有 Nodal 信号，并且骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子及 Wnt 也被抑制。后部区域则以 Nodal、骨形态发生蛋白、Wnt、成纤维细胞生长因子及视黄酸为特征。Wnt、骨形态发生蛋白及成纤维细胞生长因子蛋白形成一个梯度，在后部的浓度最高，在靠近前部的区域急剧下降。此外，从原结处开始的胚胎前半部分有高浓度的拮抗剂，以阻止骨形态发生蛋白和 Wnt 发挥作用（图 12.22A)。成纤维细胞生长因子 -8 的梯度通过 mRNA 的降解而形成：它的 mRNA 表达在胚胎的生长后端，但在新形

成的组织中缓慢降解。因此，在胚胎的后部有一个成纤维细胞生长因子 -8 的 mRNA 梯度，这一梯度进而转化成蛋白梯度（图 12.22B；Dubrulle and Pourquié 2004）。如我们将在后几章中看到的那样，成纤维细胞生长因子 -8 梯度主要影响体壁中胚层（形成肌肉和脊椎），而 Wnt 梯度影响神经发育的极性。

除了一些成纤维细胞生长因子以外，晚期原肠胚还有一个视黄酸梯度，在胚胎的后部区域呈现高水平，而在前部呈现低水平。这一梯度（像鸡、蛙和鱼的胚胎中一样）似乎受控于胚胎后部表达的视黄酸合成酶及前部表达的视黄酸降解酶（Sakai et al. 2001；Oosterveen et al. 2004）。它们对区分脑的不同区域具有重要作用。

成纤维细胞生长因子梯度通过调节 Cdx 家族的 *caudal* 相关基因参与胚胎后部区域的图式化（图 12.22C；Lohnes 2003）。*Cdx* 基因反过来整合各种后部化信号，并激活特定的同源异形基因。

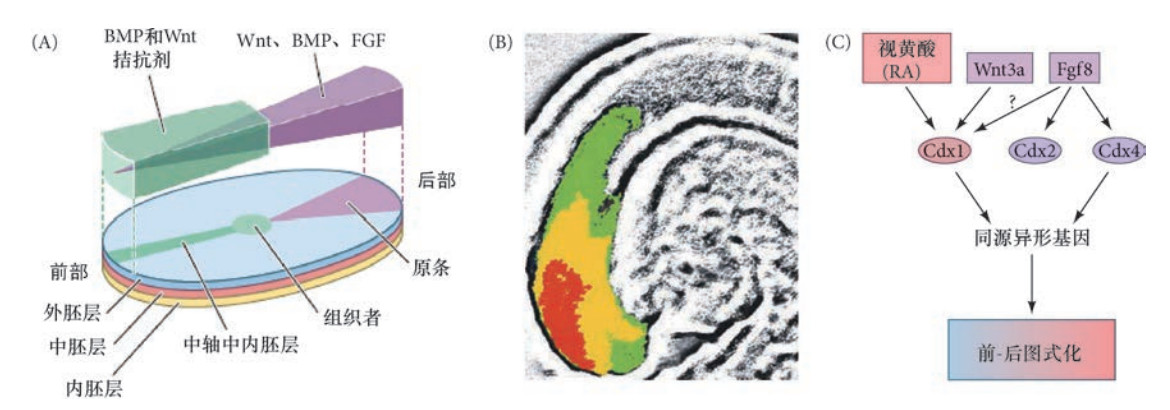


图 12.22　小鼠胚胎前 - 后轴的图式化。(A) 小鼠晚期原肠胚（描绘成扁平盘状）中骨形态发生蛋白 (BMP)、Wnt 及成纤维细胞生长因子 (FGF) 的浓度梯度。原条和其他后部组织是 Wnt 和骨形态发生蛋白的来源，而组织者及其衍生组织（如脊索）产生一些拮抗剂。成纤维细胞生长因子 -8 在原肠胚的后端表达，并在尾芽中维持。它的 mRNA 发生降解，在整个胚胎的后部建立了一个梯度。(B) 第 9 天的小鼠胚胎尾芽区域中成纤维细胞生长因子 -8 的梯度。成纤维细胞生长因子 -8（红色）表达量最高的位置靠近尾部末端的区域。这个梯度是通过成纤维细胞生长因子 -8 探针的原位杂交和染色时间的逐步增加而确定的。(C) 视黄酸、Wnt3a 和成纤维细胞生长因子 -8 都参与后部的图式化，但调节同源异形基因的 Cdx 家族蛋白将它们整合在一起（A 图参考 Robb and Tam 2004；B 图来自 Dubrulle and Pourquié 2004，由 O. Pourquié 提供；C 图参考 Lohnes 2003）。

12.2.3.3　前 - 后图式化：同源异形基因码假说

在所有的脊椎动物中，前 - 后极性都受同源异形基因的表达所特化。脊椎动物的同源异形基因与果蝇的同源异形选择者基因（Hom-C 基因）是同源的（见第 9 章）。在果蝇 3 号染色体上的同源异形基因复合物含有触角足和双胸基因簇（见图 9.24），并且可被看成是单独的功能单元。的确，在其他一些昆虫中，如粉甲虫（*Tribolium*），它确实是一个单独的物理单元。在所有已知的哺乳类基因组中，每个单倍体组都含有四个拷贝的同源异形框复合物，位于四个不同的染色体上（在小鼠从 *Hoxa* 到 *Hoxd*，在人类从 *HOXA* 到 *HOXD*；见 Boncinelli et al. 1988；McGinnis and Krumlauf 1992；Scott 1992）。

在昆虫和人类，这些基因在它们各自染色体上的顺序是非常相似的，就像这些基因的表达图式一样。与果蝇中的唇、口器足和畸形基因同源的哺乳类基因在前部表达，且表达得较早；而与果蝇中 *AbdB* 基因同源的那些基因在后部表达，且表达得较晚。如同果蝇中的情形，在小鼠中，另一组编码转录因子的基因调节头部的形成。在果蝇中，它们是 *orthodenticle* 和 *empty spiracles* 基因。而在小鼠中，中脑和前脑通过表达这两个基因的同源物而形成，即 *Otx2* 和 *Emx*（见 Kurokawa et al. 2004；Simeone 2004）。

哺乳动物的同源异形基因自 1 ～ 13 被编号，从表达在最前端的每个复合物的最末端开始。图 12.23 显示果蝇和小鼠的同源异形基因之间的关系。小鼠中每个复合物上的对等基因（如 *Hoxa4*、*Hoxb4*、*Hoxc4* 和 *Hoxd4*）是**旁系同源物**（**paralogue**），也就是说，这四个哺乳类基因的同源异形复合体可能是通过染

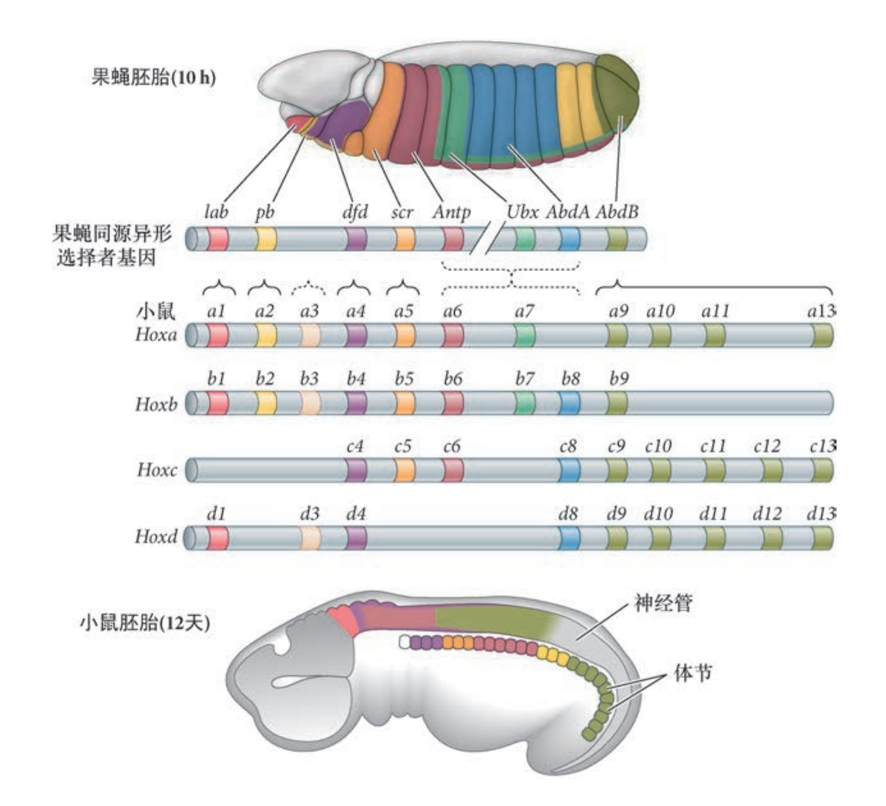


图 12.23 果蝇和小鼠之间同源异形基因的组织化和转录表达的进化保守性表现在果蝇 3 号染色体上同源异形选择者基因簇和小鼠基因组上四个同源异形基因簇之间的相似性。具有相似结构的基因在四个染色体上都处在相同的相对位置，旁系同源基因群呈现出相似的表达图式。数字编号高的小鼠基因在发育过程中表达较晚，而且在更靠后部的位置表达。在染色体的上方和下方分别显示果蝇的同源异形选择者基因和小鼠 *Hoxb* 基因的表达图式。*lab*，唇；*pb*，口器足；*dfd*，畸形；*scr*，性梳减少；*Antp*，触角足；*Ubx*，超级双胸（参考 Carroll 1995）。

色体的重复而形成的。由于果蝇的同源异形复合物基因与小鼠的同源异形基因之间并不是一对一的对应关系，有可能是自从这两个动物类群发生偏离以后，出现了一些独立的基因重复和丢失事件（Hunt and Krumlauf 1992）。的确，小鼠最后部的同源异形基因（对应于果蝇的 *AbdB*）在一些哺乳类动物的染色体中经历了自身的一组重复。

同源异形基因沿着哺乳动物体轴（神经管、神经嵴、轴旁中胚层及表面外胚层）的表达从后脑的前部边界延伸到尾部。但是，这些表达区域并不完全重叠，而是位于 3′ 端的同源异形基因（果蝇中的唇、口器足和畸形基因的同源物）的表达位置比位于 5′ 端的同源异形基因（果蝇中的超级双胸、*abdA* 和 *AbdB* 基因的同源物）更靠前部。因此，人们通常可以发现第 4 旁系同源组比第 5 旁系同源组的表达位置更靠前部，依此类推（见图 12.23；Wilkinson et al. 1989；Keynes and Lumsden 1990）。同源异形基因的突变显示，沿前 - 后轴的区域性特征主要受表达在最后部的同源异形基因所决定。

同源异形基因码的实验分析 小鼠同源异形基因的表达图式提示，有一种代码使某些组合的同源异形基因特化前 - 后轴的一个特定区域（Hunt and Krumlauf 1991）。一些特定的旁系同源基因沿躯体的前 - 后轴提供分节性特征。这样一种代码的证据主要来自两个方面：①比较解剖学，不同脊椎动物物种的脊椎类型与一组同源异形基因的表达相关联；②基因靶向（“敲除”）实验，将一个或者多个同源异形基因的两个拷贝都去除后所制备的小鼠。

比较解剖学和同源异形基因表达 在不同物种中比较一些基因的表达图式与表型的相关性产生了一种新类型的比较胚胎学。Gaunt（1994）及 Burke 和她的同事（1995）比较了小鼠和鸡的椎骨（**图 12.24A**）。尽管小鼠和鸡具有相似数目的椎骨，但这两种动物以不同的方式分配它们的椎骨。小鼠（像所有的哺乳动物一样，不论是长颈鹿还是鲸）有 7 块颈椎，接着是 13 块胸（肋）椎、6 块腰（腹）椎、4 块骶（臀）椎，以及数目不等（20 多块）的后（尾）椎。不同的是，鸡有 14 块颈椎、7 块胸椎、12 或 13 块（取决于不同的品系）腰骶椎，以及 5 块尾（融合的尾）椎。研究人员因此要问，一组同源异形基因的表达是否与形成的椎骨类型（如颈椎或者胸椎）相关，或者与椎骨的相对位置（如第 8 或者第 9 椎骨）相关？

答案是，同源异形基因的表达预定了将要形成的椎骨类型。在小鼠中，从颈椎过渡到胸椎是在第 7 块和第 8 块椎骨之间；而在鸡中，这一过渡是在第 14 和 15 块椎骨之间（**图 12.24B**）。在这两种情况下，

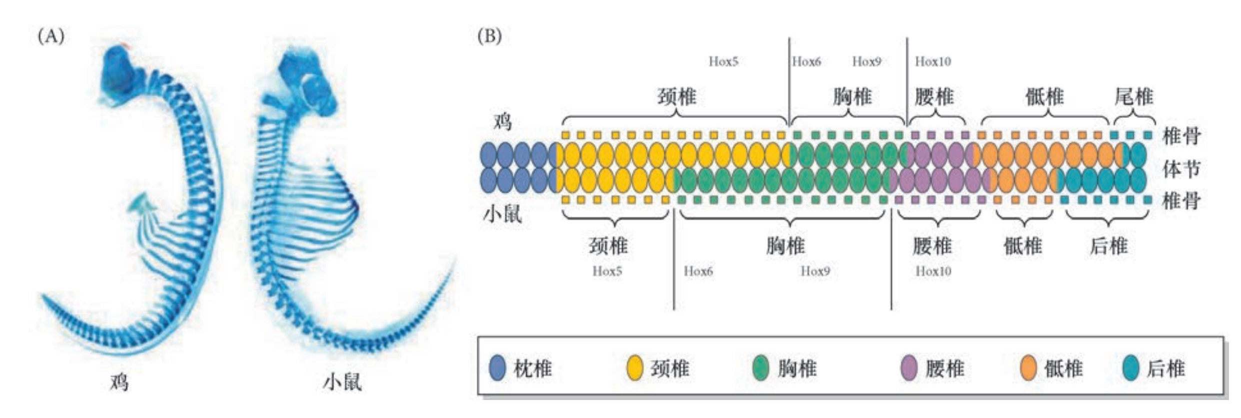
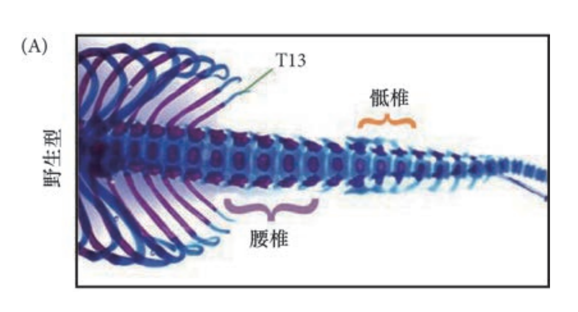
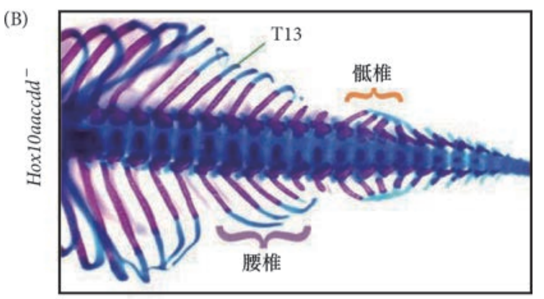


图 12.24　鸡和小鼠沿前 - 后轴的椎骨图式示意图。(A) 在相似的发育阶段用阿尔新蓝染色的中轴骨骼。鸡的颈椎数量是小鼠的两倍。(B) 一些同源异形基因 (Hox) 的旁系同源组之间的表达边界 (Hox5/6 和 Hox9/10) 被映射到不同椎骨类型的区域 (A 图来自 Kmita and Duboule 2003，由 M. Kmita 和 D. Duboule 提供；B 图参考 Burke et al. 1995)。

Hox5 旁系同源基因都表达在最后一块颈椎，而 *Hox6* 旁系同源基因表达的前部边界延伸至第一胸椎。相似地，在这两种动物中，胸椎到腰椎的过渡出现在 *Hox9* 和 *Hox10* 旁系同源组的边界。似乎有一个区分同源异形基因沿前 - 后轴表达的代码，而这个代码决定了未来要形成的椎骨类型。

基因靶向　如我们在前面提到的，小鼠的椎骨有特定的数目和类型，而同源异形基因的表达图式决定了椎骨的类型（**图 12.25A**）。实验证明，如果敲除 *Hox10* 旁系同源组（也就是图 12.23 中的 *Hoxa10*、*Hoxc10* 和 *Hoxd10*）的 6 个拷贝，腰椎便无法形成。取而代之的是，预定腰椎形成了肋骨，以及与胸椎相似的其他特征（**图 12.25B**）。这种现象类似于昆虫中的同源（异位）转化。但是，小鼠中的基因代偿使这种转化难以发生，因为即使只有一个拷贝的 *Hox10* 旁系组，也能阻止这种转化 (Wellik and Capecchi 2003；Wellik 2009)。类似地，如果敲除 *Hox11* 旁系组的所有 6 个拷贝，胸椎和腰椎能正常形成，但骶椎不能形成，取而代之的是腰椎（**图 12.25C**）。最近，一项工作将 *Hoxb6* 基因与 Delta 的增强子融合，使之表达在每个体节。结果是产生一个“蛇形”的小鼠，其身体的每个体节都形成了带有肋骨的胸椎（见图 17.7C；Guerreiro et al. 2013）。





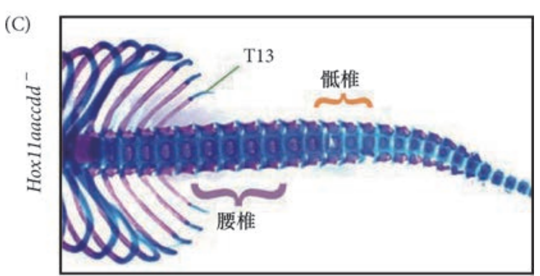
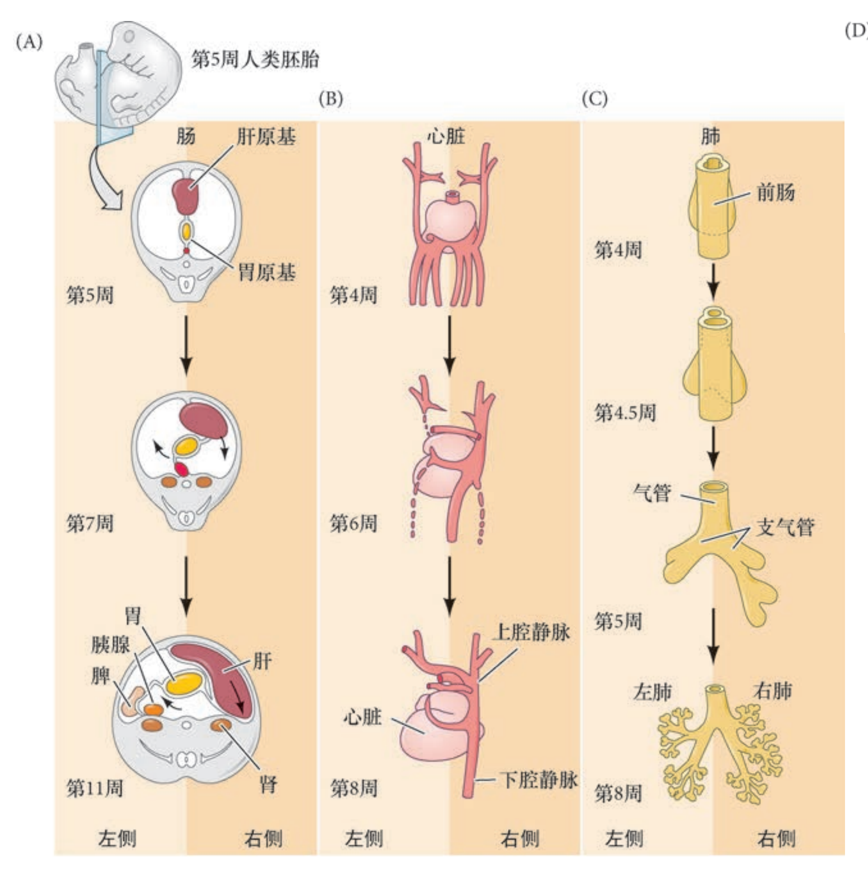


图 12.25　基因敲除实验中的小鼠中轴骨骼。每个图都是第 18.5 天的胚胎，从胸的中部到尾部自腹部向上观察。(A) 野生型小鼠。(B) *Hox10* 旁系同源物 (*Hox10aaccdd*) 被完全敲除后腰椎（在第 13 胸椎之后）转变成具有肋骨的胸椎。(C) *Hox11* 旁系同源物 (*Hox11aaccdd*) 被完全敲除后骶椎转化成腰椎（参考 Wellik and Capecchi 2003，由 M. Capecchi 提供）。

12.2.3.4　左 - 右轴

哺乳动物身体内部的器官呈不对称分布，脾、心脏和肝的位置沿左 - 右轴被决定（**图 12.26A ～ C**）。在鸡胚胎中，左 - 右轴的形成是由于 Nodal 蛋白和转录因子 Pitx2 在侧板中胚层的左侧被激活，而 Nodal



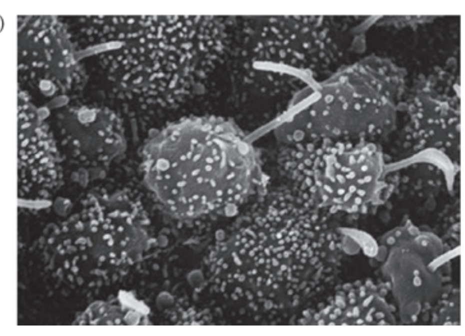


图 12.26 人类发育过程中的左右不对称。(A) 腹部横切面显示，最初对称的器官原基在第 11 周时获得不对称的位置。肝向右侧移动，而脾向左侧移动。(B) 不仅心脏移向身体的左侧，最初对称分布的静脉血管也呈现出差异性的退缩以形成只与心脏右侧相连的上腔静脉和下腔静脉。(C) 右侧的肺分支成三叶，而左肺（靠近心脏）只形成两叶。人类男性的阴囊也是不对称的。(D) 小鼠原结的纤毛细胞，每个细胞都有一个从后腹部伸出的纤毛 (A ～ C 图参考 Kosaki and Casey 1998；D 图由 K. Sulik 和 G. C. Schoenwolf 提供）。

蛋白的抑制物 Cerberus 在右侧表达（见图 12.10；Collignon et al. 1996；Lowe et al. 1996；Meno et al. 1996）。然而，每个羊膜动物类群都可能以不同的方式来起始这一途径 (Vanderberg and Levin 2013)。在哺乳动物中，原结中的纤毛细胞在左侧和右侧存在差异（**图 12.26D**）。这些纤毛能使原结中的液体从右向左流动（从腹部观察时呈顺时针方向）。Nonaka 及其同事 (1998) 在小鼠中敲除了一个编码纤毛马达蛋白（动力蛋白）的基因（见第 7 章），这使原结的纤毛不能运动，所有不对称器官的侧部位置出现随机化。这也能够帮助解释一种临床观察，就是缺失动力蛋白的人具有不能运动的纤毛，而且心脏的位置也随机地位于左侧或右侧（见 Afzelius 1976）。此外，Nonaka 及其同事 (2002) 将小鼠的早期胚胎培养在一个自左向右流动的人工培养基时，得到了左 - 右轴的逆转。

这一旋转的机制似乎取决于大约 200 个单纤毛原结细胞上纤毛基体的位置。形成每个纤毛的基体都位于每个细胞的后部，并向腹部表面延伸。因此，纤毛的位置整合了前 - 后和背 - 腹轴的信息以构建左 - 右轴 (Guirao et al. 2010；Hashimoto et al. 2010)。纤毛的位置受平面细胞极性途径调控，可能被一个 Wnt 蛋白激活。平面细胞极性途径的一些信号分子的突变能使这些细胞中的纤毛位置呈随机分布，也导致左 - 右轴的随机化。

那么这一旋转又如何产生一个体轴？邻近原结的一些细胞，称为**冠状细胞** (**crown cell**)，似乎能够感受液体的流动。这些细胞具有静纤毛，能受液体运动的影响。液体的运动在纤毛上激活 Pkd2 蛋白。Pdk2 启动的一个信号级联似乎抑制 Cerberus 的表达，因此激活 Nodal 的表达 (Kawasumi et al. 2011；Yoshiba et al. 2012)。Nodal 被认为能以自分泌的方式与冠状细胞结合，以维持自身的转录，所以 Cerberus（在右侧由冠状细胞产生）将会抑制 Nodal 表达的维持。通过这种方式，Nodal 的表达被维持在左侧，在这个位置它能激活 *Pitx* 基因的表达，Pitx 蛋白进而决定组织的左侧或右侧特性。

> **观察发育 12.2** 几个网站中的视频聚焦于人类发育过程中每周发生的变化，还有一些网站详细描述了小鼠发育的分子生物学，并与人类的发育相比较。

12.2.4　孪生

哺乳动物胚胎的早期细胞可以相互替代，并能补偿一个缺失的细胞。这种调节能力在 1952 年被首次证明，Seidel 去除了 2 细胞期兔胚胎中的一个细胞，剩下的一个细胞仍能产生一个完整的胚胎。人类中的早期胚胎也具有这种调节能力。人类的孪生现象主要分为两类：单合子（单卵；完全相同的）孪生和双合子（双卵；异卵双生的）孪生。异卵双生是两个独立受精事件导致的结果，而同卵孪生是由于单个胚胎的细胞彼此分离所造成的结果。

人类中同卵孪生发生的概率大约是 1/400，这可能是由于早期卵裂球发生分离的结果，或者是由于同一个胚泡中的内细胞团分成两个区域的结果。大约 33% 的同卵孪生拥有完全分开的绒毛膜，说明在第 5 天滋养层组织形成之前就发生了分离（**图 12.27A**）。另外一些同卵孪生分享一个共同的绒毛膜，暗示在滋养层形成之后内细胞团发生了分离。到第 9 天，人类胚胎已经构建了另一种胚外层，即羊膜的内壁。如果分离发生在绒毛膜形成的第 5 天之后，但在羊膜形成的第 9 天之前，那么形成的胚胎就会具有一个绒毛膜和两个羊膜（**图 12.27B**）。这在人的同卵孪生中所占的比例大约是 2/3。小部分同卵孪生具有一个绒毛膜和一个羊膜（**图 12.27C**），意味着胚胎的分离发生在 12 天之后。

根据这些对孪生的研究，内细胞团的每个细胞都应该能够产生身体的任何细胞。这一假设已经被证实，而且对哺乳动物发育的研究具有重要的影响。如果内细胞团细胞被分离后生长在一定的条件下，它们能维持未分化的状态并在培养基中持续分裂（Evans and Kaufman 1981；Martin 1981）。这样的细胞是胚胎干细胞（ES 细胞）。如果将胚胎干细胞注射到小鼠的一个胚泡，它们可以整合到受体胚胎的内细胞团，这样形成的胚胎具有来自供体组织和受体组织的细胞。这一技术对研究哺乳动物发育过程中的基因功能极为重要。

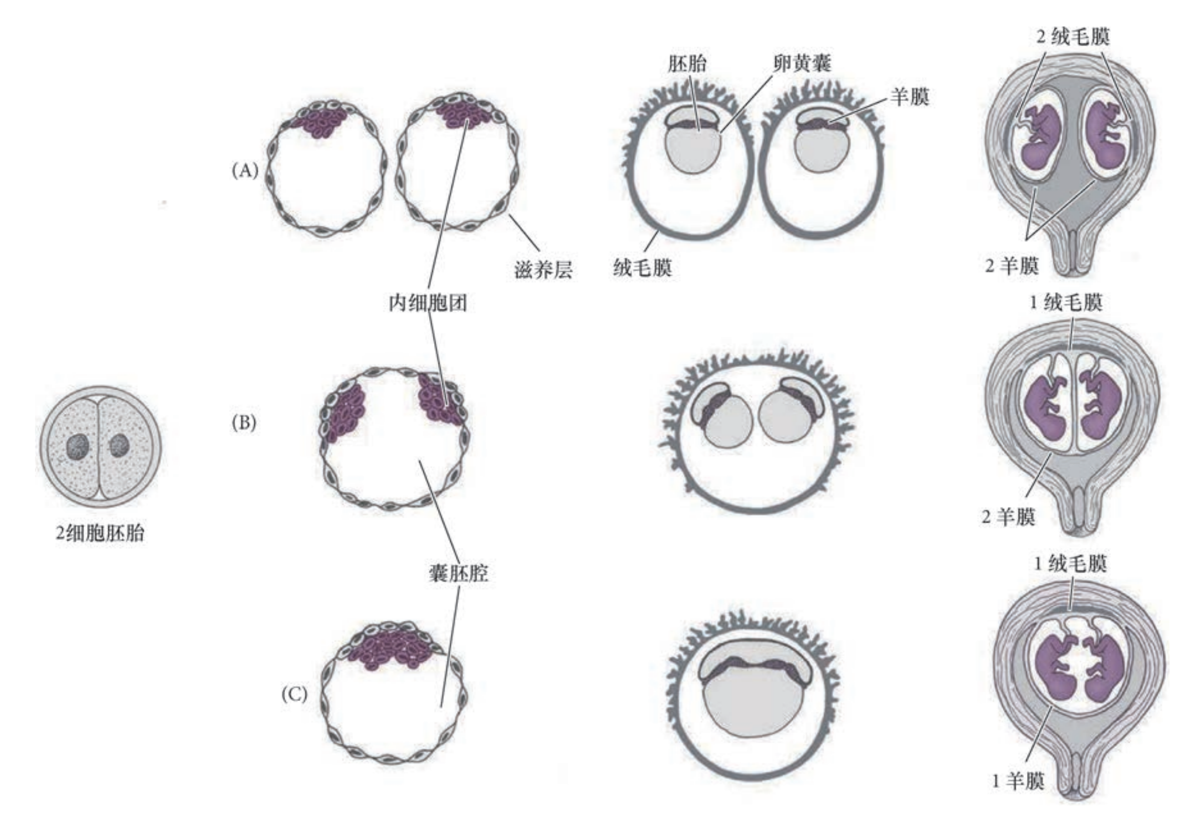


图 12.27　人类单合子孪生现象发生的时间与胚外膜的关系。(A) 分离发生在滋养层形成之前，因此每个胚胎具有自身的绒毛膜和羊膜。(B) 分离发生在滋养层形成之后，但在羊膜形成之前，孪生胚胎拥有各自的羊膜，但共享一个绒毛膜。(C) 羊膜形成之后发生的分离导致孪生胚胎共享一个绒毛膜和一个羊膜（参考 Langman 1981）。

网络话题 12.6 **嵌合性** 与孪生相反，如果将两个不同的胚胎融合在一起而形成一个单独的个体，就是嵌合体。

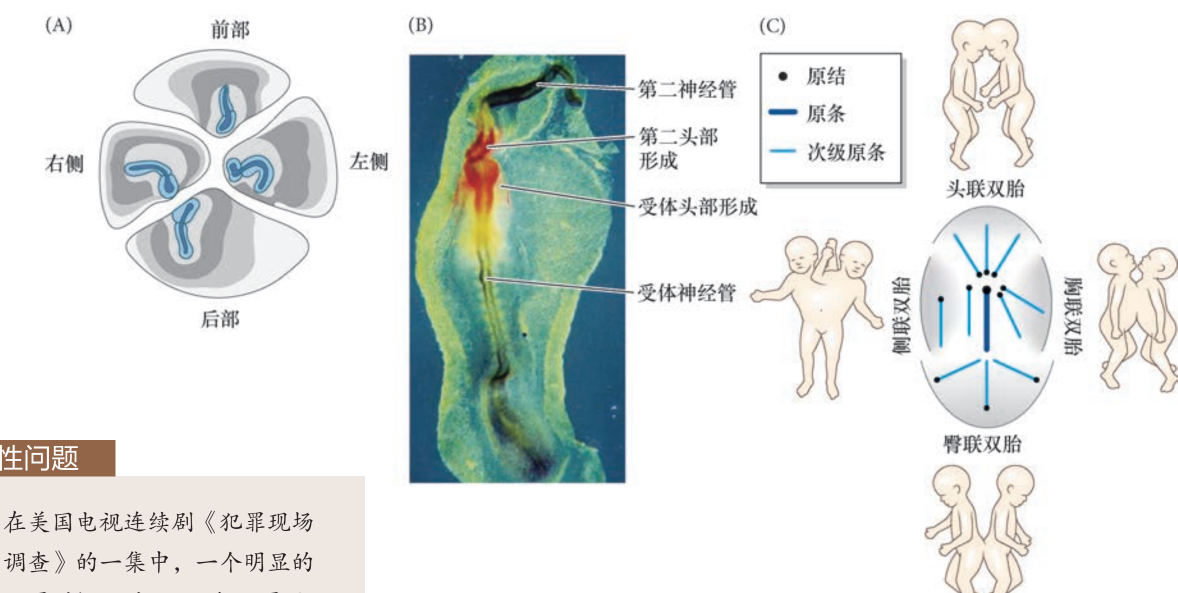
异卵双生产生于受精期间（两个单独的卵与两个单独的精子相遇），而同卵孪生形成于卵裂期间，但**联体双胎**（**conjoined twin**）则可能形成于原肠胚形成期间。联体双胎完全相同（从未有文献记载联体双胎具有不同的性别），每 20 万个活产婴儿中大约有 1 例。Spratt 和 Haas（1960）显示，如果将鸡的上胚层分成四部分，每一部分都能形成一个原条（图 12.28A）。此外，如果把第二个亨氏结放置在鸡胚胎的上胚层，两个原条就能够融合在一起。如果边缘区出现一个裂口（这能形成一个新的 Nodal 表达中心），或者边缘区有第二个表达 *Nodal* 的区域，那么就可以形成第二个体轴（图 12.28B；Bertocchini and Stern 2002；Perea Gomez et al. 2002；Torlopp et al. 2014）。人类形成原条的分子途径可能与鸡相同，所以联体双胎的产生有可能是由于边缘区形成了两个 Nodal 表达区域的结果。Levin（1999）证明，这可以解释不同类型的联体双胎（图 12.28C）。我们不知道联体双胎是如何产生的，但原肠胚形成期间多个体轴的产生可能解释这一现象。

网络话题 12.7 **联体双胎** 尽管联体双胎是一个罕见的现象，但它所引起的医学和社会问题却为历史上人们所认为的“个性”提供了一个令人入迷的视角。

发育辅导课 **孪生现象** **在这一简短的讲座中，Scott Gilbert 描述近期一些关于孪生胎儿形成的理论。**

结束语

一些重要发育主题的变化在不同脊椎动物类群中演变出来（图 12.29）。脊椎动物原肠胚形成的一些



拓展性问题

在美国电视连续剧《犯罪现场调查》的一集中，一个明显的犯罪嫌疑人的 DNA 与犯罪现场细胞中的 DNA 不匹配。这一集是改编自一个罕见的真实情况：一个哺乳动物具有两套不同的 DNA。你觉得这样一种情况是如何产生的？

图 12.28 （A）Spratt 和 Haas（1960）显示，如果把鸡胚胎的上胚层分成四部分，每一部分都能形成一个原条。（B）如果把另一个亨氏结放置在鸡胚胎的上胚层，两个原条能融合在一起。如果在边缘区出现第二个 Nodal 的表达区域，那么就能形成第二个体轴。（C）由于人类形成原条的分子途径可能与鸡相同，联体双胎的产生有可能是边缘区形成了两个 Nodal 的表达区域。这可以解释不同类型的联体双胎（Levin 1999）。

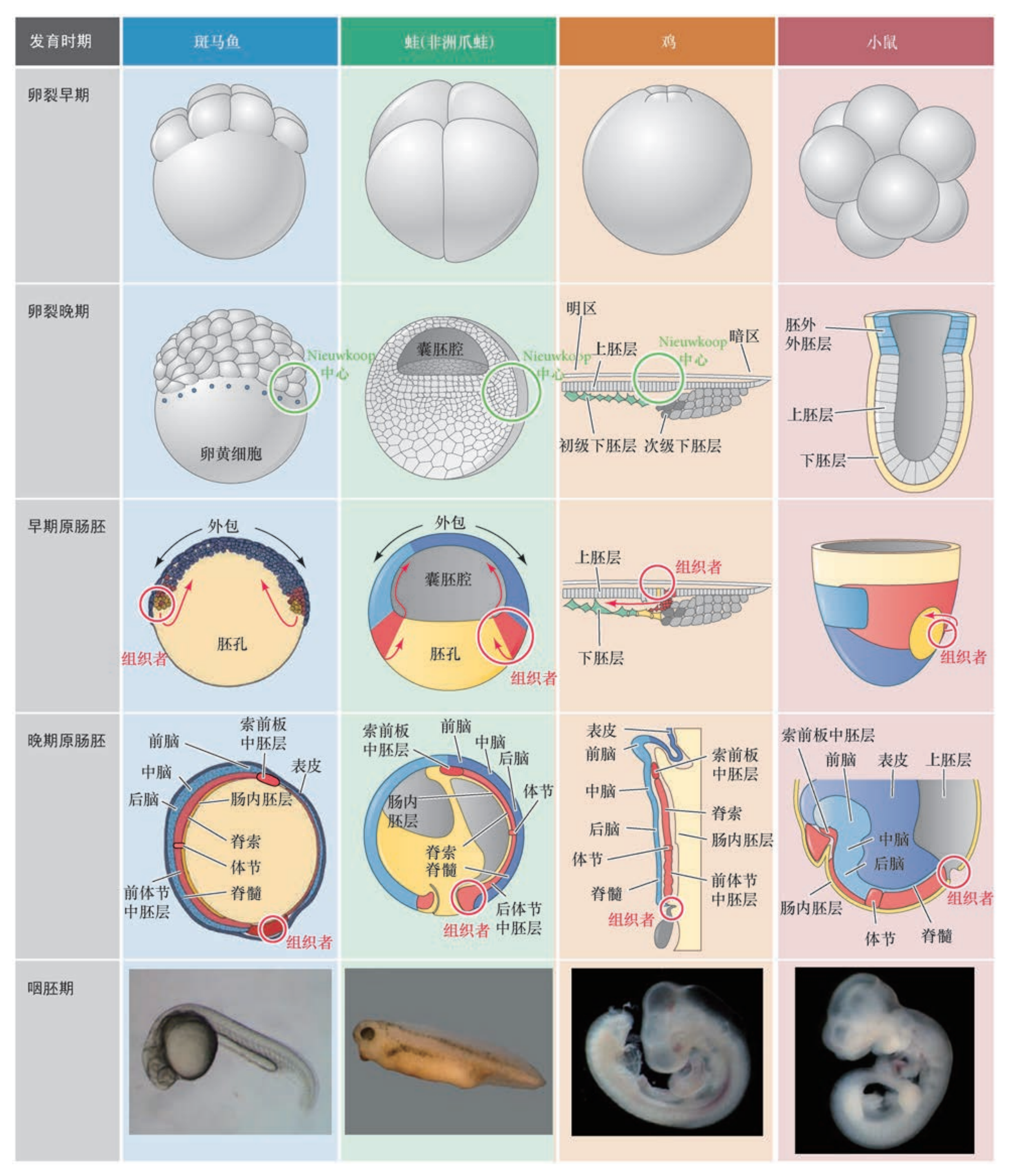


图 12.29　四种脊椎动物的早期发育。在这四种类群中，胚胎的早期卵裂具有很大的差异。斑马鱼和鸡具有盘状不完全卵裂，非洲爪蛙具有不均等完全卵裂，而哺乳类则是均等完全卵裂。这些卵裂图式形成不同的结构，但也具有许多保守的特征，如 Nieuwkoop 中心（NC；绿圈）。在原肠胚形成开始时，每个类群的胚胎中都具有对应于 Spemann-Mangold 组织者（SMO；红圈）的细胞。SMO 标志胚孔区域的起始位置，从组织者延伸出的红色箭指示胚孔的其余部分。到原肠胚后期，内胚层（黄色）位于胚胎内部，外胚层（蓝色、紫色）包裹胚胎，而中胚层（红色）则位于内胚层和外胚层之间。中胚层的区域化也已经开始。图的最底排显示紧随原肠胚形成之后的咽胚期。这一时期的胚胎具有咽、位于中间的神经管和脊索、位于两侧的体节，以及脊椎动物特有的头部感觉区域（参考 Solnica-Krezel 2005）。

主要主题包括：

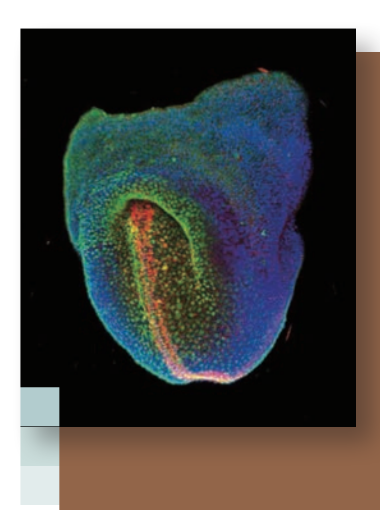
- 内胚层和中胚层的内化；
- 外胚层围绕整个胚胎的外包；
- 内部细胞向中线的集中；
- 躯体沿前 - 后轴的延伸。

尽管鱼类、两栖类、鸟类和哺乳类的胚胎具有不同图式的卵裂和原肠胚形成，但它们利用许多相同的分子来实现相同的目标。每个类群都使用 Nodal 和 Wnt 蛋白梯度沿前 - 后轴建立极性。在非洲爪蛙和斑马鱼中，母体因子在植物半球或者边缘区诱导 Nodal 蛋白。在鸡胚胎中，Nodal 的表达受来自后缘区的 Wnt 和 Vg1 所诱导，而在其他位置的 Nodal 活性被下胚层分泌的 Cerberus 所抑制。在小鼠中，下胚层也限制 Nodal 的活性，但利用 Cerberus 和 Lefty1。

每个脊椎动物类群都使用骨形态发生蛋白的抑制物来特化背轴。类似地，Wnt 的抑制和 Otx2 的表达对胚胎前部区域的特化非常重要，但这些蛋白质可能表达在不同的细胞群体。在所有情况下，从后脑到尾部的躯体部分受同源异形基因的特化。最后，左 - 右轴通过 Nodal 在胚胎左侧的表达而建立。Nodal 激活 Pitx2，从而导致胚胎左侧和右侧的差异。Nodal 的表达如何被定位于胚胎的左侧在脊椎动物类群中有所不同。但在一般情况下，尽管不同脊椎动物类群的卵裂和原肠胚形成在最初存在差异，但它们都使用非常相似的方式来建立三个体轴。

下一步的研究

诱导多能干细胞（见第 5 章）为我们研究哺乳动物发育提供了一个前所未有的机会。利用干细胞能使我们突变特定的基因，以阐明产生发育异常的信号路径。一些最重要的研究使我们不得不关注一些伦理问题和经济影响。如果人们负担得起，他们是否可以让自己衰老的器官重新再生？我们是否可以向胚胎中添加某些基因，使它们可以在不同的环境中存活，或者具有更大的神经可塑性或更强壮的躯体？



开篇图的思考

这个第 7.5 天小鼠胚胎的原条和头部中胚层图片显示前部特化的开始。所有细胞的细胞核被染成蓝色。转录因子 Lhx1、Foxa2（绿色）及 Otx2 相互作用，调节前部中内胚层的分化。Brachyury（红色）染色中央中胚层。Foxa2 和 Brachyury 共同表达在前部中线结构和原结（黄色）。这一图式由 Nodal 和 Wnt 蛋白调节，并建立将要形成哺乳动物躯体前部（头）和后部（尾）结构的胚胎区域（照片由 I. Costello 和 E. Robertson 提供）。

12 要点总结



鸟类和哺乳类的早期发育

1. 像鱼类一样，爬行类和鸟类胚胎进行盘状不完全卵裂，早期的细胞分裂不分割卵黄。这些早期细胞形成一个胚盘层。

2. 在鸡胚胎中，早期卵裂形成一个暗区和一个明区。两者之间的区域是边缘区。原肠胚形成起始于紧随后缘区的明区，下胚层和原条都在这个位置形成。
3. 原条来自上胚层细胞和 Koller 镰形区的中间细胞。亨氏结在原条向前部延伸时形成。从亨氏结迁移出来的细胞变成索前中内胚层，随后是头突和脊索细胞。
4. 索前板帮助诱导前脑的形成；脊索中胚层诱导中脑、后脑和脊髓的形成。最早经过原条向侧部迁移的细胞变成内胚层，并置换下胚层。而后，中胚层细胞经过原条迁移。同时，表面外胚层围绕卵黄进行外包。
5. 在鸟类，重力帮助决定原条形成的位置。原条指示后部到前部的方向，它的分化建立了背 - 腹轴。左 - 右轴的形成受胚胎左侧表达的 Nodal 蛋白所决定，Nodal 在发育中的左侧器官诱导 Pitx2 的表达。
6. 下胚层帮助胚胎决定体轴的形成，它的迁移决定了伴随原条形成及其定向的细胞运动。
7. 哺乳动物进行一种演变形式的旋转完全卵裂，其特征是缓慢的细胞分裂速度、独特的卵裂方向、不同步的分裂及胚泡的形成。
8. 胚泡在卵裂球致密后形成。它包括外部细胞和内细胞团，外部细胞是将要变成绒毛膜的滋养层细胞；内细胞团将形成羊膜和胚胎。
9. 内细胞团具有多能性，而且能被作为胚胎干细胞进行培养。它们形成上胚层和脏壁内胚层（下胚层）。
10. 绒毛膜形成胎盘的胎儿部分。胎盘的功能是向胚胎提供氧和养分、维持妊娠状态所需的激素，并能抑制母体可能对发育中的胎儿所产生的免疫排斥。
11. 哺乳动物的原肠胚形成并非与鸟类不同。似乎有两个信号中心，一个在原结，另一个位于前部脏壁内胚层。后者对体轴的建立至关重要，而前者对诱导神经系统及图式化后脑之后的中轴结构是非常关键的。
12. 同源异形基因图式化前 - 后轴，并沿这个轴特化特定的位置。敲除同源异形基因会产生体节特异的畸形。类似地，同源异形基因的异位表达能使体轴发生变化。
13. 果蝇和哺乳类之间同源异形基因结构的同源性和表达图式的相似性说明这种图式化机制是极其古老的。
14. 哺乳动物左 - 右轴的特化与鸟类相似，但某些基因的功能存在显著差异。
15. 在羊膜类的原肠胚形成过程中，多能性的上皮或者上胚层产生中胚层和内胚层（它们经过原条进行迁移），以及外胚层的前体（保留在胚胎表面）。头部和前部躯干结构在原肠胚形成结束时形成。胚胎继续通过后部化的亨氏结周围的尾部上胚层中的前体细胞进行延伸。
16. 在每一个脊椎动物纲中，抑制骨形态发生蛋白介导的表皮组织诱导后使神经外胚层形成。
17. 异卵双生产生于两个独立的受精事件。单卵孪生是在胚胎中仍具有多能性胚胎细胞的时期，胚胎分成两组细胞而产生的。实验证据显示，一个共同的胚盘中形成两个组织者时能产生联体双胎。

拓展阅读

Balaskas, N. and 7 others. 2012. Gene regulatory logic for reading the Sonic hedgehog signaling gradient in the vertebrate neural tube. *Cell* 14: 273–284.

Chiang, C., Y. Litingtung, E. Lee, K. E. Yong, J. L. Corden, H. Westphal and P. A. Beachy. 1996. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 383: 407–413.

Cohen, M., A. Kicheva, A. Ribeiro, R. Blassberg, K. M. Page, C. P. Barnes, and J. Briscoe. 2015. Ptch1 and Gli regulate Shh signalling dynamics via multiple mechanisms. *Nature Commun.* 6: 6709.

Dady, A., E. Havis, V. Escriou, M. Catala, and J. L. Duband. 2014. Junctional neurulation: A unique developmental program shaping a discrete region of the spinal cord highly susceptible

to neural tube defects. *J. Neurosci.* 34: 13208–13221.

Gouti, M., V. Metzis and J. Briscoe. 2015. The route to spinal cord cell types: A tale of signals and switches. *Trends Genet.* 31: 282–289.

Hashimoto, H., F. B. Robin, K. M. Sherrard and E. M. Munro. 2015. Sequential contraction and exchange of apical junctions drives zippering and neural tube closure in a simple chordate. *Dev. Cell* 32: 241–255.

Jessell, T. M. 2000. Neuronal specification in the spinal cord: Inductive signals and transcriptional codes. *Nature Rev. Genet.* 1: 20–29.

Lawson, A., H. Anderson and G. C. Schoenwolf. 2001. Cellular mechanisms of neural fold formation and morphogenesis in the chick embryo. *Anat. Rec.* 262: 153–168.

Massarwa, R. and L. Niswander. 2013. In toto live imaging of mouse morphogenesis and new insights into neural tube closure. *Development* 140: 226–236.

McShane, S. G., M. A. Molè, D. Savery, N. D. Greene, P. P. Tam and A. J. Copp. 2015. Cellular basis of neuroepithelial bending during mouse spinal neural tube closure. *Dev. Biol.* 404: 113–124.

Milunsky, A., H. Jick, S. S. Jick, C. L. Bruell, D. S. Maclaughlen, K. J. Rothman and W. Willett. 1989. Multivitamin folic acid supplementation in early pregnancy reduces the prevalence of neural tube defects. *J. Am. Med. Assoc.* 262: 2847–2852.

Sasai, N., E. Kutejova and J. Briscoe. 2014. Integration of signals along orthogonal axes of the vertebrate neural tube controls progenitor competence and increases cell diversity. *PLoS Biol.* 12(7):e1001907.

Wilde, J. J., J. R. Petersen and L. Niswander. 2014. Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. *Annu. Rev. Genet.* 48: 583–611.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

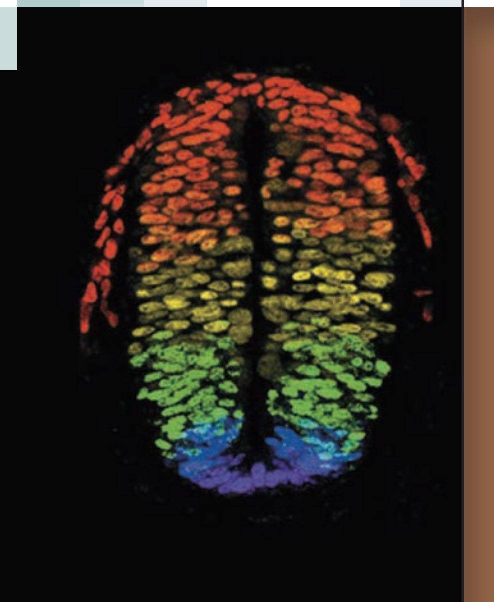
查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 13 章

神经管的形成和图式化

Sonic hedgehog 的时间价值是什么？

“就像昆虫学家追寻鲜艳的蝴蝶，我的注意力集中在灰质花园里具有精致和优雅形状的细胞，它们是灵魂世界里的神秘蝴蝶”。被称为神经科学之父的圣地亚哥·拉蒙·卡哈尔（Santiago Ramóny Cajal）曾经这样评述他对脑的研究工作。他这段 1937 年的引文巧妙地捕捉了脑作为一个大的系统，对控制交流、意识、记忆、情绪、运动、消化、感知及性等功能的魅力和神秘。这一中央器官的发育如何与生物体其余部分的发育相协调以产生整合的连通性，这个问题仍将是发育生物学在 21 世纪的最根本问题之一。第一个关键事件是一个上皮层被转变成一个管。这一初始结构将为脑结构沿前 - 后轴方向的区域化和多样化提供基础，通过细胞生长和分化的一些重要机制，脊椎动物中枢神经系统复杂而高度连接的结构得以建立。我们将在接下来的三章中研究神经系统的发育，这一章讨论神经管的形成和其中细胞命运的特化（图 13.1）。在第 14 章，我们将深入探讨沿中枢神经系统的背 - 腹轴控制细胞命运图式化和神经元发生的机制。然后在第 15 章，我们将浏览



要点

脊椎动物脑和脊髓从神经上皮细胞组成的一个平板开始发育，这个平板沿其大部分长度折叠起来形成一个管。形成这个神经管的过程被称为神经胚形成。这种折叠发生在神经板的特定位置，细胞形状的不对称变化使它们的顶端收缩，建立组织弯曲的折点。神经板的折叠使得两侧向上运动并相互靠近，直到它们在中线处融合，好像一个管被拉上拉链。神经管与表面上皮组织通过差异性黏附而分离，这样就产生了中枢神经系统。新神经管的细胞被特化成神经元和神经胶质细胞的前体，神经管也沿其背腹轴被特化成不同的区域。源于背部表面外胚层和脊索的形态发生素浓度梯度建立一些诱导关键调控转录因子的位置信息，这些因子进而起始细胞类型特异的基因调控网络。转化生长因子 -β 和 Sonic hedgehog 信号在神经胚形成和神经管的细胞命运图式化中具有重要作用。

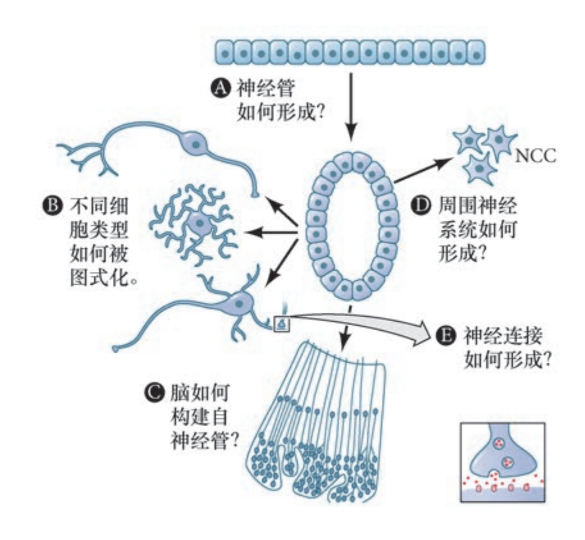


图 13.1 第 13、14 和 15 章要解决的主要问题。本章将回答神经胚形成和细胞命运特化（A，B）的问题。神经管如何扩展成复杂的脑结构（C）将在第 14 章解答。周围神经系统（D）主要来自神经嵴细胞（NCC）从神经管背部的迁移。另外，新生的神经元必须延伸出长的突触以找到它们的突触伙伴（E），从而将神经系统连接起来。第 15 章将涉及主题（D）和（E）。

神经系统接线和神经嵴谱系发育的分子导向机制。

脊椎动物的外胚层是包裹晚期原肠胚的外部胚层，它有三个主要功能（图 13.2）。

1. 部分外胚层将变成**神经板**（**neural plate**），这是受索前板和脊索在原肠形成过程中诱导的预定神经组织。神经板内卷进入体内形成**神经管**（**neural tube**），是**中枢神经系统**（**central nervous system，CNS**），也就是脑和脊髓的前体。
2. 这一胚层的另外一部分将变成**表皮**（**epidermis**），也就是皮肤的外层（是脊椎动物身体的最大器官）。表皮在生物体和外界之间形成一个具有弹性、防水和持续再生的屏障。
3. 在形成表皮的区室和中枢神经系统之间是预定**神经嵴**（**neural crest**）。神经嵴细胞在背侧中线与这些上皮分层，在神经管和表皮之间迁移出去后形成（除其他组织以外）**周围神经系统**（**peripheral nervous system**），即中枢神经系统以外的所有神经和神经元，以及色素细胞（黑素细胞）。

这三个外胚层区域在物理上和功能上彼此分离的过程称为**神经胚形成**（**neurulation**），一个**神经胚**（**neurula**）是正在经历这些过程的一个胚胎（图 13.3；Gallera 1971）。如我们在前面几章中所见，外胚层的特化在原肠胚形成过程中完成，主要受控于外胚层细胞所接触的骨形态发生蛋白的水平。高水平的骨形态发生蛋白将细胞特化成表皮。非常低水平的骨形态发生蛋白将细胞特化为神经板。居间水平影响神经嵴细胞的形成。神经胚形成紧接着原肠胚形成之后。

13.1 神经板转变成神经管：中枢神经系统的诞生

神经板细胞以表达 Sox 家族的转录因子（Sox1、Sox2 和 Sox3）为特征。这些转录因子：①激活一些将细胞特化为神经板的基因；②通过阻断骨形态发生蛋白的转录和信号转导来抑制表皮和神经嵴的形成（Archer et al. 2011）。在这一过程中，我们再次看到发育的一个重要原则：促进一种细胞类型特化的一些信号通常也阻断另一种类型的特化。Sox 转录因子的表达将神经板细胞变成能够形成中枢神经系统所有细胞类型的神经前体（Wilson and Edlund 2001）。

尽管神经板位于胚胎的表面，但是神经系统并不处在成熟躯体的外部。神经板需要通过某种方式移动到胚胎内部并形成一个神经管。这一过程是通过神经胚形成而完成的，它在不同脊椎动物中有所差异（Harrington et al. 2009）。神经胚形成有两种主要的方式。在**初级神经胚形成**（**primary neurulation**）过程中，神经板周围的细胞引导神经板细胞增殖，内陷入体内，并从表面外胚层分离以形成一个中空的管道。在**次级神经胚形成**（**secondary neurulation**）过程中，神经管来自间充质细胞聚集而形成的一个实心索，它随后形成一些空腔，这些腔彼此融合后产生一个中空的管。在许多脊椎动物中，初级和次级神经胚形成在胚胎中具有空间上的分离，这使初级神经胚形成产生神经管的前部部分，而神经管的后部部分来自

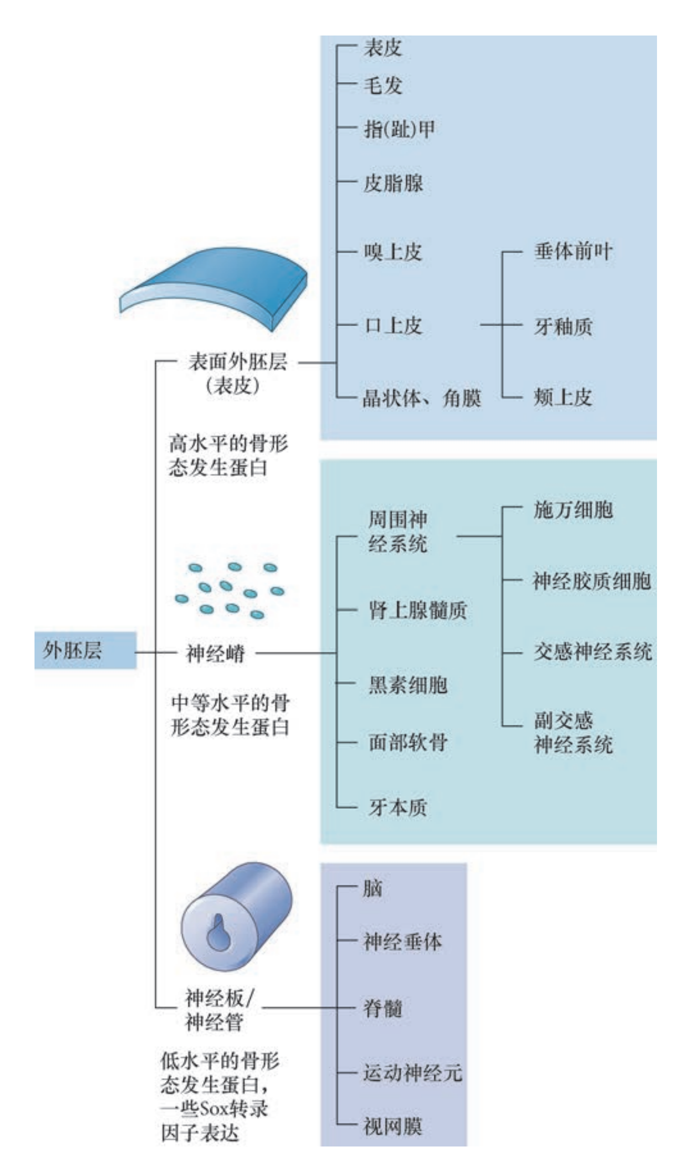


图 13.2　外胚层的主要衍生物。外胚层分成三个主要的区域：表面外胚层（主要是表皮）、神经嵴（周围神经元、色素、面部软骨）、神经管（脑和脊髓）。

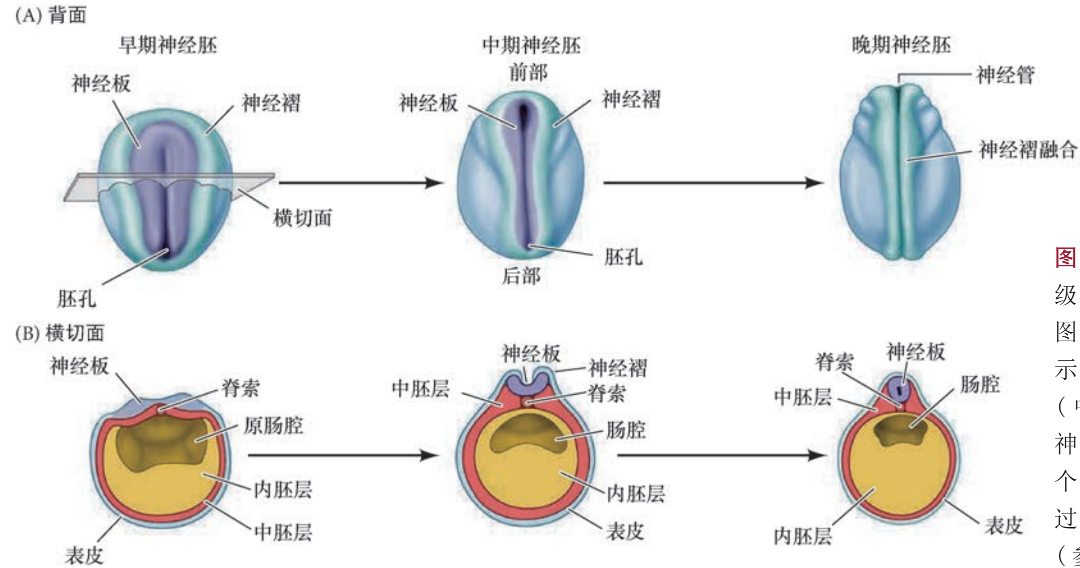


图 13.3　两栖类胚胎初级神经胚形成的两种视图，在每种情况下都显示了早期（左）、中期（中间）和晚期（右）神经胚。(A) 向下看整个胚胎的背面。(B) 通过胚胎中心的横切面（参考 Balinsky 1975）。

次级神经胚形成（图 13.4）。

在鸟类，初级神经胚形成产生位于后肢之前的神经管（Pasteels 1937；Catala et al. 1996）。在哺乳动物，次级神经胚形成开始于尾部的骶椎水平（Schoenwolf 1984；Nievelstein et al. 1993）。在鱼类和两栖类（即斑马鱼和非洲爪蛙），只有尾部神经管来自次级神经胚形成（Gont et al. 1993；Lowery and Sive 2004）。更基础的脊索动物（如文昌鱼和海鞘）只有初级神经胚形成的机制，说明初级神经胚形成是一个祖先状态，而次级神经胚形成的演化很像四肢，也就是说，这是脊椎动物中与尾部延伸相关联的新事物（Handrigan 2003）。

拓展性问题

为什么需要两个独立的机制来形成神经管？是什么进化压力迫使胚胎采取次级神经胚形成而不是初级神经胚形成的后部延伸？当你思考这些问题的时候，考虑一下胚胎的第一个形态发生机制，也就是原肠胚形成。原肠胚形成结束的时间点和它使前 - 后轴延伸的能力（或缺失这个能力）如何影响你的观点。令人惊讶的是，我们现在还没有完全了解神经系统的进化史。

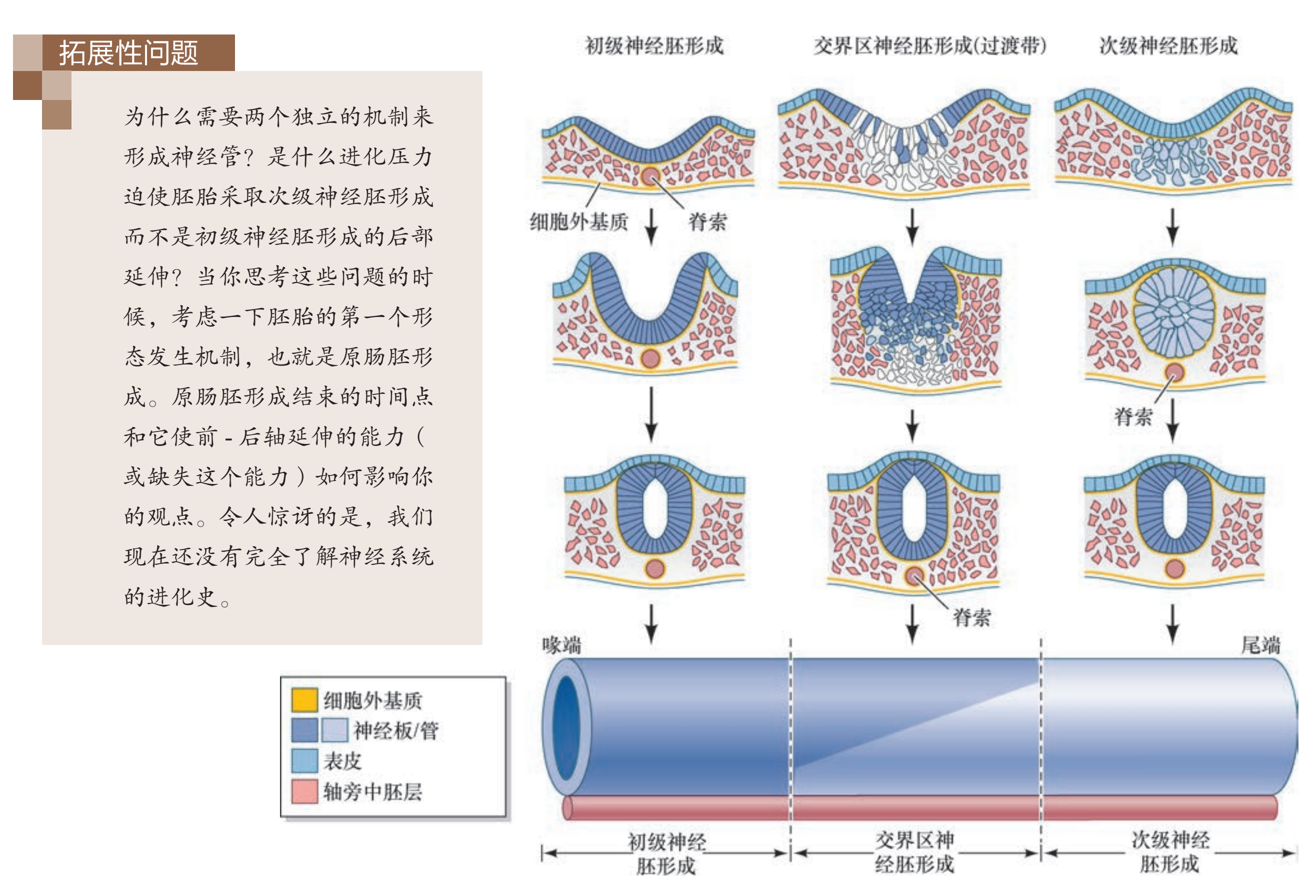


图 13.4 初级和次级神经胚形成及它们之间的过渡带。下图是神经管表面的侧面观。神经管上部的图示对应于通过中轴水平的横切面，显示神经管沿前后方向形成。不同的细胞类型用不同的颜色标注，如密钥所示（参考 Dady et al. 2014）。

当两个分别形成的管连在一起时就产生了一个完整的神经管。初级和次级神经管之间**过渡带**（**transition zone**）的大小在不同物种之间存在差异，在小鼠中两者之间相对较窄，在鸡胚胎中这个区域横跨胸椎，在人类中则位于胸腰椎区域（Dady et al. 2014）。在这个过渡带发生的神经管形成称为**交界区神经胚形成**（**junctional neurulation**），因为它涉及了参与初级和次级神经胚形成机制的一个组合（见图 13.4；Dady et al. 2014）。

发育辅导课 神经胚形成 Michael Barresi 博士描述神经管形成的细胞事件和分子机制。

13.1.1 初级神经胚形成

尽管存在一些物种间的差异，初级神经胚形成的过程在所有脊椎动物中都相对类似[1]。为了探索神

[1] 在硬骨鱼如斑马鱼中，神经板不折叠，但向中线集中而形成神经龙骨，神经管的管腔通过一个空腔化过程而形成（Lowery and Sive 2004；也见 Harrington et al. 2009）。

经板折叠的机制，我们将主要关注羊膜动物中初级神经管形成的过程。在形成后不久，鸡的神经板边缘增厚并向上运动而形成**神经褶**（**neural fold**），这样就在神经板中间出现了一个 U 型的**神经沟**（**neural groove**），将胚胎的未来左右两侧分开（图 13.5）。神经板两侧的神经褶继续向胚胎的中线运动，最终在外胚层的下方融合形成神经管。

初级神经胚形成可被分成四个不同但在时空上相互重叠的时期。

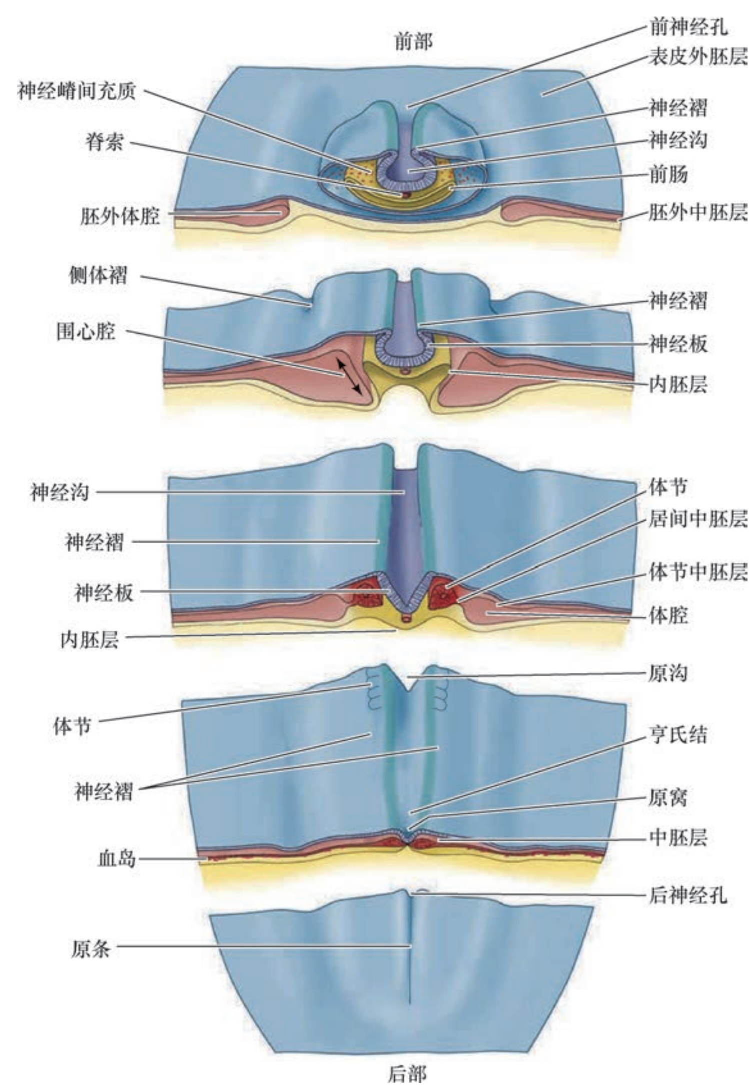


图 13.5　神经胚形成过程中的鸡胚胎（背部观），大约孵化到 24 h。头部已经进行了神经胚形成，而尾部仍在进行原肠胚形成（参考 Patten 1974）。

1. 神经板的延伸和折叠。神经板内的细胞分裂偏向于前后方向，通常称为**喙 - 尾**（**rostral-caudal**）方向，这可以促进与原肠胚形成相关的持续性体轴延伸。即使将神经板从胚胎分离出来，这些事件仍然发生。但是，要卷成一个神经管，预定表皮组织也是必需的（图 13.6A，B；Jacobson and Moury 1995；Moury and Schoenwolf 1995；Sausedo et al. 1997）。
2. 神经板的弯曲。神经板的折叠涉及铰合区的形成，也即神经板与周围组织相接触的位置（Schoenwolf 1991a，b；Catala et al. 1996）。在鸟类和哺乳类，位于神经板中线的细胞形成**内侧铰合点**（**medial hinge point，MHP**）。有报道显示内侧铰合点的细胞牢固地锚定在位于其下方的脊索，形成一个转折点（图 13.6C），这样就能在背中线的位置形成一个沟，即**神经沟**（**neural groove**）。
3. 神经褶的汇聚。此后不久，两个**背外侧铰合点**（**dorsolateral hinge point，DLHP**）被表面（表皮）外胚层诱导并被锚定在其上。在最初的神经沟出现后，神经板在铰合区周围弯曲。每个铰合点作为一个枢轴，引导周围的细胞旋转（Smith and Schoenwolf 1991）。表面外胚层持续的汇聚将神经褶推向胚胎的中线，这为神经板的弯曲提供了另外一个动力，使神经褶汇聚（图 13.6D；Alvarez and Achoenwolf 1992；Lawson et al. 2001）。预定表皮的这种运动，以及神经板与其下方中胚层的锚定可能对保证神经管内陷（或进入胚胎）而不是向外，有非常重要的作用（Schoenwolf 1991a）。
4. 神经管的闭合。当一对神经褶在背中线处相互接触时，神经管就开始闭合。神经褶彼此黏附，一侧的神经和表面外胚层细胞与另一侧相对应的细胞融合。在这个融合事件中，神经褶顶部的细胞进行分层，变成神经嵴细胞（图 13.6E）。

铰合点的调节　折叠神经板意味着要弯曲一层上皮细胞。如何能使一排连在一起的盒子弯曲？如果

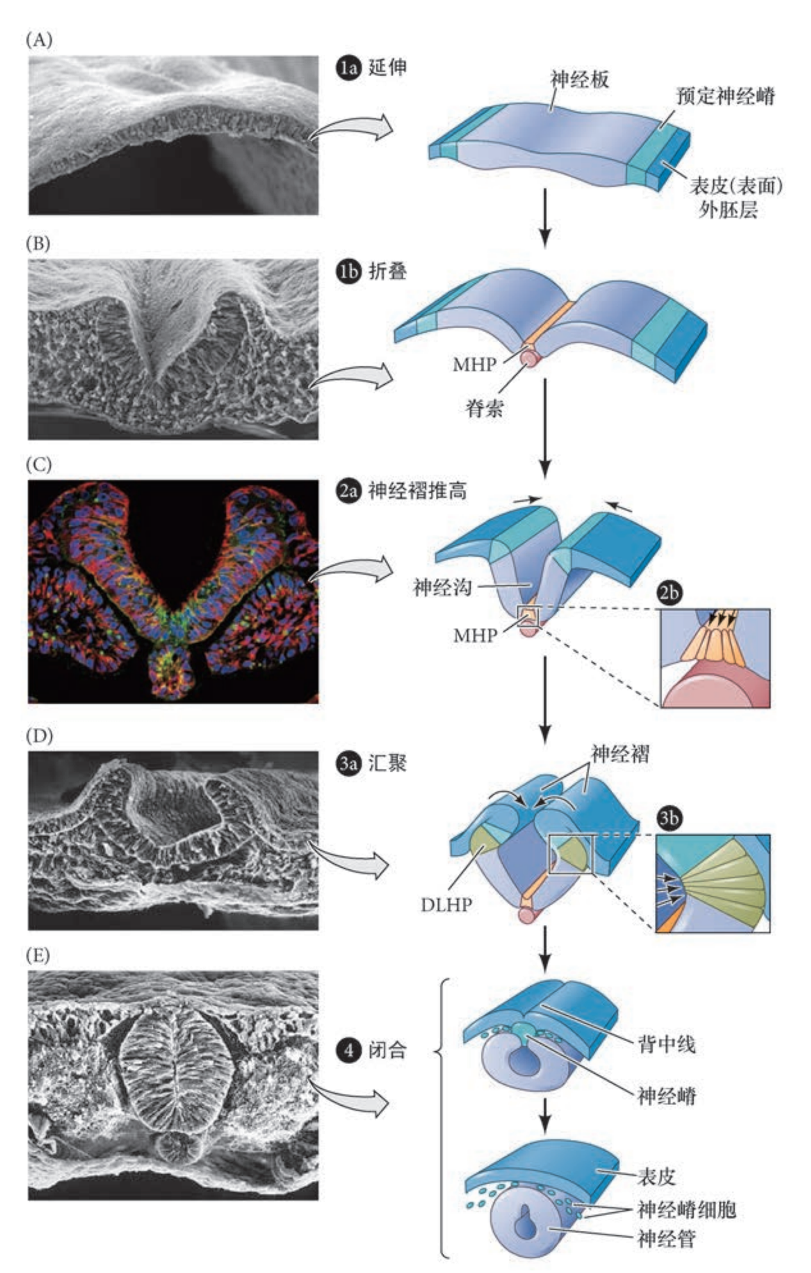


图 13.6 初级神经胚形成：鸡胚胎神经管的形成。(A，1a) 神经板细胞是位于外胚层背部的伸长细胞。(B，1b) 在内侧铰合点 (MHP)，细胞锚定在脊索上并且开始改变形状，而预定表皮细胞向背中线运动时，神经板开始折叠。(C，2a) 随着预定表皮细胞继续移向背中线，神经褶被推高。细胞顶端肌动蛋白的不对称收缩使细胞改变形状，促进内侧铰合点的弯曲 (B，C，2b)。(C) 推高的神经褶被染色，显示细胞外基质（绿色）和肌动蛋白细胞骨架（红色）集中在神经板细胞的顶部。(D，3a) 随着背外侧铰合点 (DLHP) 细胞变成楔形和表皮细胞向中线推进，神经褶汇聚。(D，3b) 背外侧铰合点的细胞也产生类似的顶端收缩。(E，4) 神经褶彼此接触。神经嵴细胞扩散，使神经管与表皮分离（扫描电镜图由 K. Tosney 和 G. Schoenwolf 提供；绘图参考 Smith and Schoenwolf 1997；C 图由 E. Marti Gorostiza 和 M. Angeles Rabadán 提供）。

它们的形状都是一个矩形盒（即上皮），那么这是不可能的；但是，如果在一个区域内每个盒子一侧的表面面积相对于对侧而减少（建立一个平顶金字塔的形状），每个细胞都会引入一个相对于邻近细胞的位移角，就导致整排盒子弯曲。内侧铰合点和两个背外侧铰合点就是发生这种细胞形状变化的三个神经板区域（见图 13.6B ～ E）。这些位置的上皮细胞沿顶 - 基轴方向呈现出一个“楔形”的形态，基部比顶部宽（Schoenwolf and Franks 1984；Schoenwolf and Smith 1990）。与原肠胚形成过程中起始内陷的瓶状细胞类似（见图 11.4），肌动球蛋白复合物在顶端边缘的局部收缩使细胞的顶部相对于基部变小，这一过程称为**顶端收缩**（**apical constriction**）。顶端收缩和基部细胞核滞留共同产生了楔形铰合点的细胞（见图 13.6C，D；Smith and Schoenwolf 1987，1988）。另外，最近的发现说明神经板背外侧区域的分裂速度显著快于腹部区域；这会增加神经褶区域的细胞密度，并且会添加一种被假设能促进背外侧铰合点位置弯曲的力量（McShane et al. 2015）。神经板各区域产生的物理力还有待量化，但铰合点在细胞水平的形成是由于：①顶端收缩；②细胞核在细胞基部滞留引起的基部增厚；③神经褶的细胞聚集。是什么在神经板的正确位置调节这些细胞变化？

已知脊索能诱导内侧铰合点细胞变成楔形（见图 13.6B ～ D；van Straaten et al. 1988；Smith and

Schoenwolf 1989）。形态发生素 Sonic hedgehog（Shh）在脊索表达，并且对神经板底板细胞的诱导是必需的（Chiang et al. 1996），这些底板细胞进而形成内侧铰合点。内侧铰合点在敲除 *Shh* 基因的小鼠中仍然存在，说明来自脊索的其他信号可能对其形态发生是必需的（Ybot-Gonzalez et al. 2002）。

在背外侧铰合点，头蛋白似乎对于铰合点的正确形成起关键作用。在小鼠，头蛋白的缺失导致神经管闭合的严重缺陷（**图 13.7**；Stottman et al. 2006）。头蛋白在神经褶表达，这足以诱导背外侧铰合点的形成；头蛋白还短暂地在脊索表达（Ybot-Gonzalez et al. 2002，2007）。重要的是，头蛋白结合并抑制骨形态发生蛋白。是否有可能是骨形态发生蛋白的抑制引起背外侧铰合点细胞的形态变化？一些实验表明实际情况其实更为复杂。

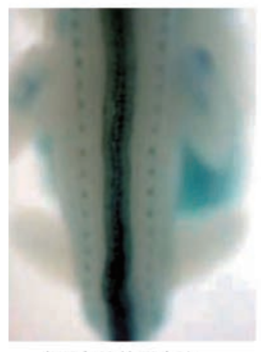


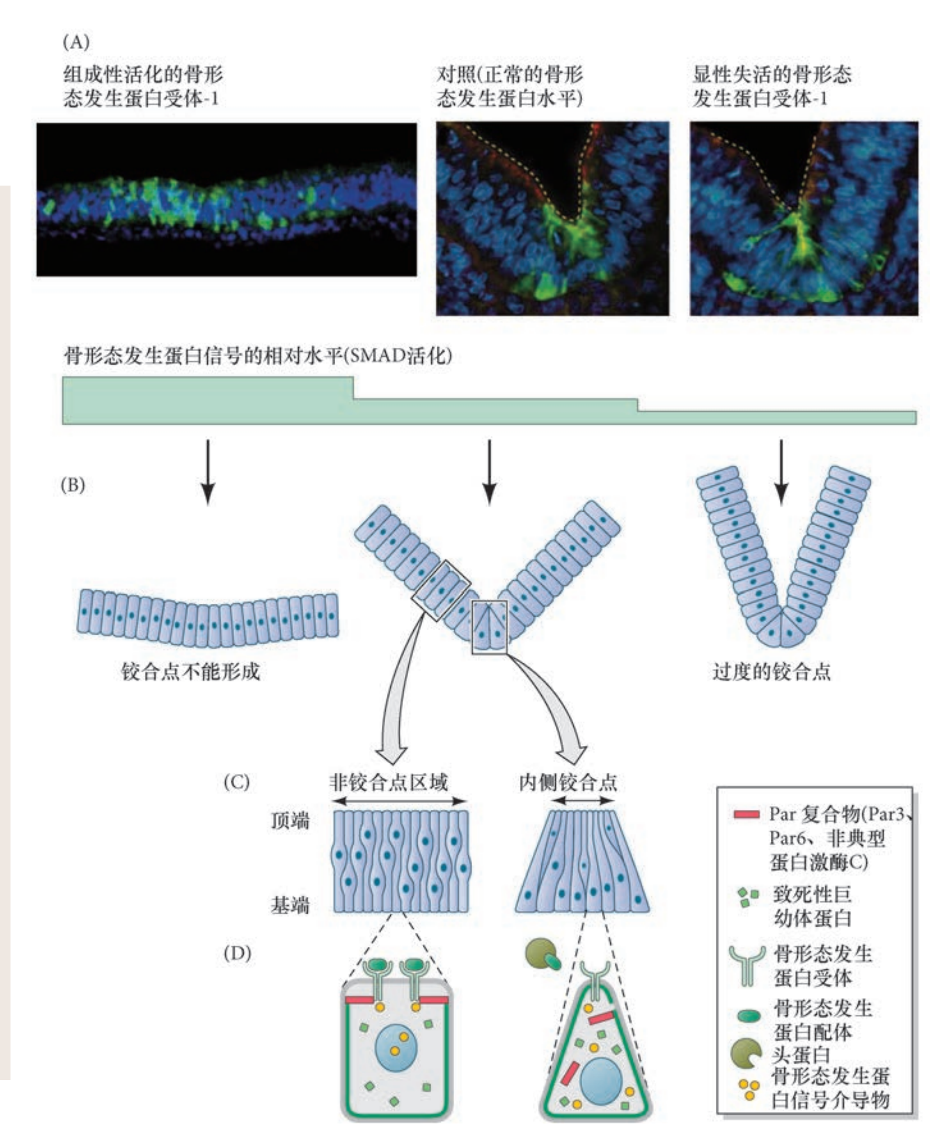


图 13.7　激活的骨形态发生蛋白信号导致神经管缺陷。(A) 在野生型小鼠中，头蛋白（骨形态发生蛋白配体的直接拮抗剂）表达在脊索和神经褶。染色深的区域是背神经褶和神经管。(B) 头蛋白基因的缺失导致神经管闭合缺陷（箭所示），部分原因可能是缺少对骨形态发生蛋白的抑制（来自 Stottman et al. 2006）。

如果通过遗传操作使鸡胚胎的神经管表达组成性活化的骨形态发生蛋白受体，这些受体能结合表面外胚层所分泌的骨形态发生蛋白，这时的表面外胚层仍与神经板和神经褶紧密连接，这将抑制所有铰合点的形成。反过来，如果使神经板完全缺失骨形态发生蛋白信号，这将会产生异位和过度的内侧铰合点及背外侧铰合点（**图 13.8A**；Eom et al. 2011，2012，2013）。因此看来，神经板中居间水平的骨形态发生蛋白信号对于铰合点的正常大小和位置是必需的（**图 13.8B**）。具有这个水平的骨形态发生蛋白信号的神经板细胞将进行顶端收缩和基部增厚以形成铰合点。这个过程是通过改变维持细胞连接的连接复合物而产生的（**图 13.8C，D**）。具体来说，高水平的骨形态发生蛋白信号促进一些蛋白质的招募，稳定连接蛋白并维持大小均等的顶端和基端细胞膜，从而阻止折叠；相反，头蛋白对骨形态发生蛋白信号的衰弱导致细胞之间的连接松弛，这将使局限在顶端的肌动球蛋白产生收缩，导致顶部细胞膜缩短。综上所述，铰合点的形成似乎以骨形态发生蛋白信号的精确调控为中心。骨形态发生蛋白抑制内侧铰合点和背外侧铰合点的形成，而头蛋白对骨形态发生蛋白的抑制使背外侧铰合点得以形成，而且来自脊索和底板的 Shh 阻止铰合点在神经板上过早和异位形成（**图 13.9**）。

神经管闭合的事件　神经管的闭合在整个神经外胚层中并不同时发生。这一现象在羊膜类脊椎动物中（爬行类、鸟类和哺乳类）最易于观察，这些动物的体轴在神经胚形成之前就已经延伸。在羊膜类，诱导作用以从前到后的方式进行。因此，在 24 h 的鸡胚胎中，**头端**（**cephalic**）区域的神经胚形成已经进行到晚期，而胚胎的**尾端**（**caudal**）正在进行原肠胚形成（见图 13.5）。神经管的两个开口端称为**前神经孔**（**anterior neuropore**）和**后神经孔**（**posterior neuropore**）。

在鸡胚胎，神经管的闭合起始于未来中脑的水平，并向两个方向“拉上拉链”。相反地，在哺乳动物，神经管的闭合沿前 - 后轴起始于多个部位（**图 13.10**）。在人类，可能有 5 个神经管闭合的位置（见图 13.5B；Nakatsu et al. 2000；O’Rahilly and Muller 2002；Bassuk and Kibar 2009），而且每个位置的闭合机制可能都不一样（Rifat et al. 2010）。位于脊髓和后脑连接处的头部闭合位点（闭合位点 1）似乎与鸡胚胎的神经管一样，将神经褶用“拉链”拉上。类似地，在位于中脑和前脑交界的闭合位点 2，一个方向性的拉链样机制配以动态的细胞延伸使神经管闭合。在闭合位点 3（前脑前部），神经管的闭合似乎完全依赖于



拓展性问题

是什么诱导内侧铰合点的形成？两个发现：①一个额外的脊索能诱导异位铰合点的形成；② Sonic hedgehog 能抑制背外侧铰合点，这暗示其他一些因子可能参与这个诱导。是否有可能是头蛋白在脊索的早期表达（因此仍然是关于骨形态发生蛋白的抑制）？这里需要注意另外一个事实：最前部的神经板只形成内侧铰合点，而最后部的神经板只形成背外侧铰合点。只有中央的中轴区域才存在两种铰合点。为什么这些铰合点位于前-后轴的不同位置？这种差异是如何调节的？

图 13.8 骨形态发生蛋白通过调节顶-基极性而阻止背外侧铰合点的形成。这个实验证明，高水平的骨形态发生蛋白信号抑制背外侧铰合点的形成，而低水平促进中线位置的过度折叠。(A) 在折叠开始前将组成性活化（左）或显性失活的骨形态发生蛋白受体（右）通过电穿孔的方法转入鸡的神经板。正常（对照）条件见于中间的图片。电穿孔的细胞可以通过绿色荧光蛋白的表达（绿色）而予以辨别；细胞核也被染色（蓝色），中间和右侧切片中的顶端细胞膜被 Par3 标记（红色）。(B) 图 A 中结果的示意图。(C) 神经板非铰合区（左）和背外侧铰合点（右）的细胞形状及细胞核位置的图示。偏向于细胞基部的细胞核（蓝色）配以顶端的肌动球蛋白收缩促使顶端收缩。(D) 神经板上皮非铰合区 (C，左) 和铰合区 (D，右) 中单个细胞的图示，说明骨形态发生蛋白信号对顶-基轴极性的作用。骨形态发生蛋白信号在顶端表面使顶端定位的 Par 复合物稳定，而 Par 复合物能够隔离一些限定基底部的成分，如致死性巨幼体蛋白 (LGL)，所有这些成分都会促进均一的上皮形态。头蛋白对骨形态发生蛋白信号的衰减能干扰这些成分的分隔，导致典型的基底区室扩张及连接复合体的松散，所有这些变化都能引起顶端收缩（参考 Eom et al. 2011，2012，2013）。

背外侧铰合点。

神经褶顶端如何被拉链闭合？是否有互扣的细胞膜和一些神秘的力量将它们沿前-后轴方向顺序性地聚在一起？更好地理解像神经管闭合这种复杂过程的一种方式就是进行直接观察。因此，人们在体外培养的小鼠胚胎中进行了非常出色的整体细胞成像 (Pargaki et al. 2010；Massarwa and Niswander 2013)。在背外侧铰合点的弯曲过程中，并置的神经褶顶端延伸出动态的细胞突出（图 13.11；也见观察发育 13.1）。这种细胞行为体现在非神经的表面外胚层细胞，它们最终向相对的神经褶延伸出长的丝足突出。这些丝足延伸建立了短暂的“细胞桥”，但其功能尚不清楚。

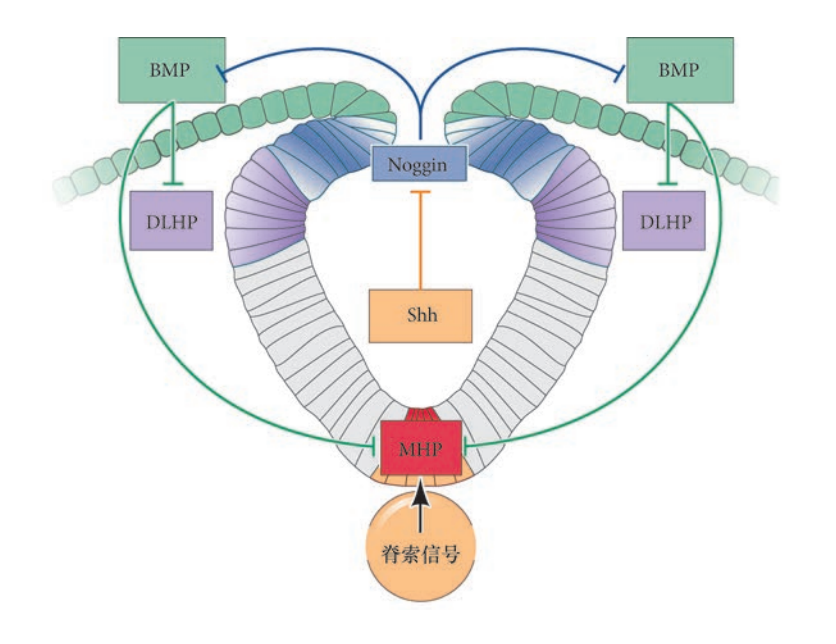
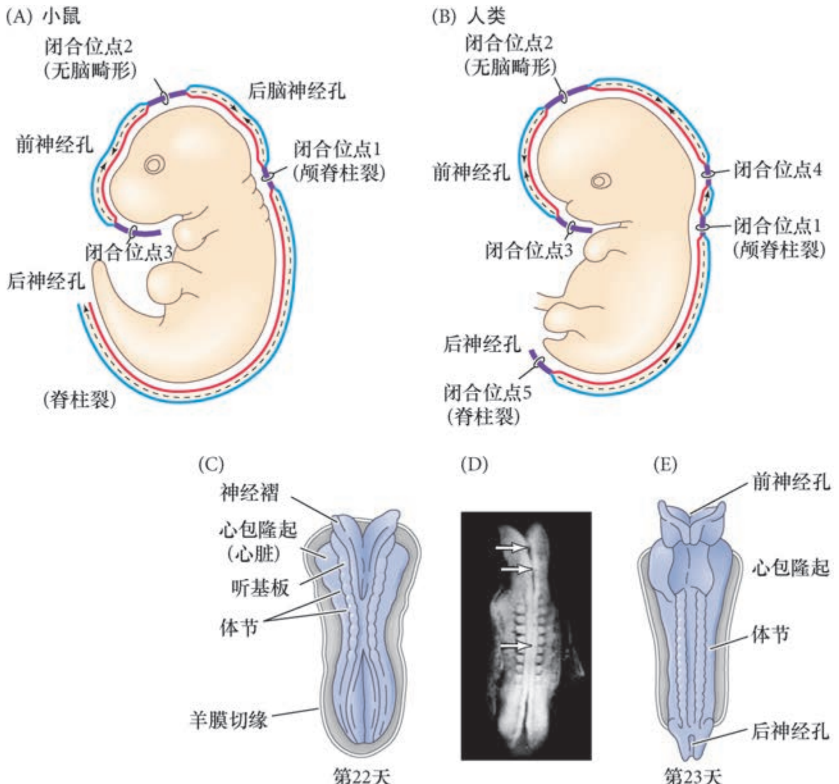


图 13.9　形态发生素对铰合点形成的调节。骨形态发生蛋白（BMP）表达在表面外胚层（绿色），头蛋白（Noggin）表达在背部神经褶（蓝色），*Shh* 表达在脊索和神经管底板。铰合点的调节围绕骨形态发生蛋白作为背外侧铰合点（DLHP）和内侧铰合点（MHP）的拮抗剂。Shh 对于底板的特化是必需的，而来自脊索的其他信号诱导内侧铰合点的形态。头蛋白直接抑制骨形态发生蛋白配体，因此缓解了骨形态发生蛋白对铰合点的抑制作用。但是，背外侧铰合点只以正确的大小、在正确的背腹轴位置上形成，这受控于头蛋白相对于抑制性 Shh 梯度（从底板开始向上扩散）的距离。因此，顶端收缩只发生在接触到足够低浓度的骨形态发生蛋白（内侧铰合点和背外侧铰合点）和 Shh（背外侧铰合点）的那些细胞。



(F)





(G)



图 13.10　哺乳动物胚胎的神经管闭合。（A，B）小鼠（A）和人（B）胚胎神经管闭合的起始位置。除了在小鼠中发现的 3 个起始位置，人的神经管闭合也起始于后脑的后端和腰部。（C）起始神经胚形成的第 22 天（8 体节）人胚胎的背面观。前后神经孔都通向羊水。（D）一个 10 体节期的人胚胎，显示一些主要的神经管闭合位点（箭所示）。（E）一个正在进行神经胚形成的第 23 天的人胚胎，只有神经孔仍然开放。（F）在携带 *curly tail* 突变（*Grainhead-like3* 基因的亚效突变）的小鼠中可见中脑露脑和开放性脊柱裂。（G）Vitoria de Cristo，她携带无脑畸形存活了两年半的时间。无脑畸形是因为神经管在位点 2 和位点 3 没有闭合，使得前脑与羊水保持接触并随后退化（A 图和 B 图参考 Bassuk and Kibar 2009；C 图来自 Nakatsu et al. 2000；F 图来自 Copp et al. 2003；G 图由 Joana Schmitz Croxato 提供；亦见 http://belovedvitoria.blogspot.com）。

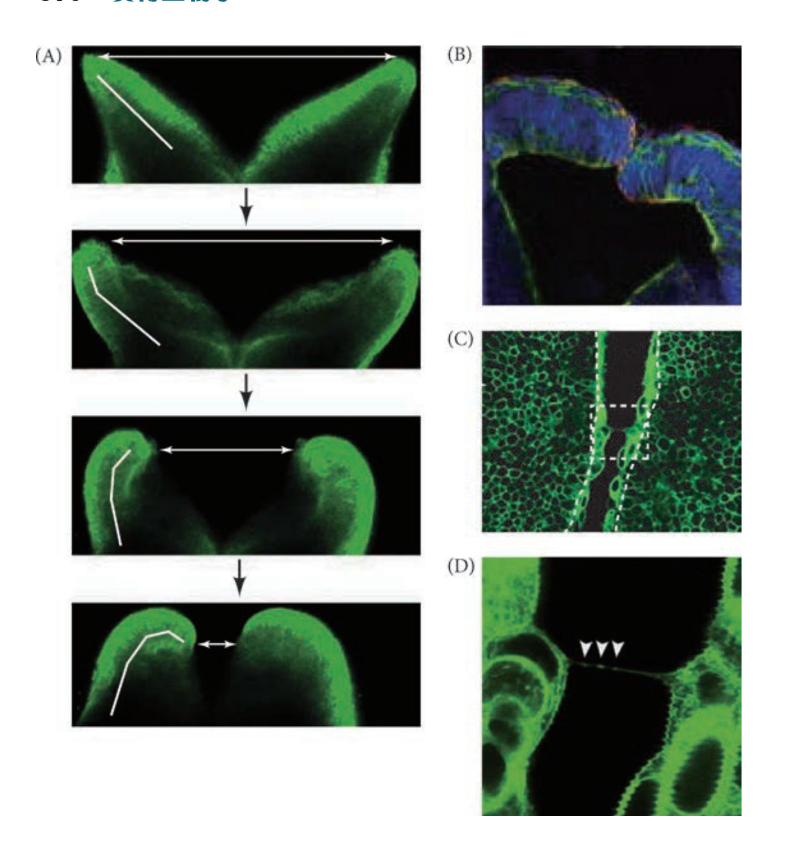


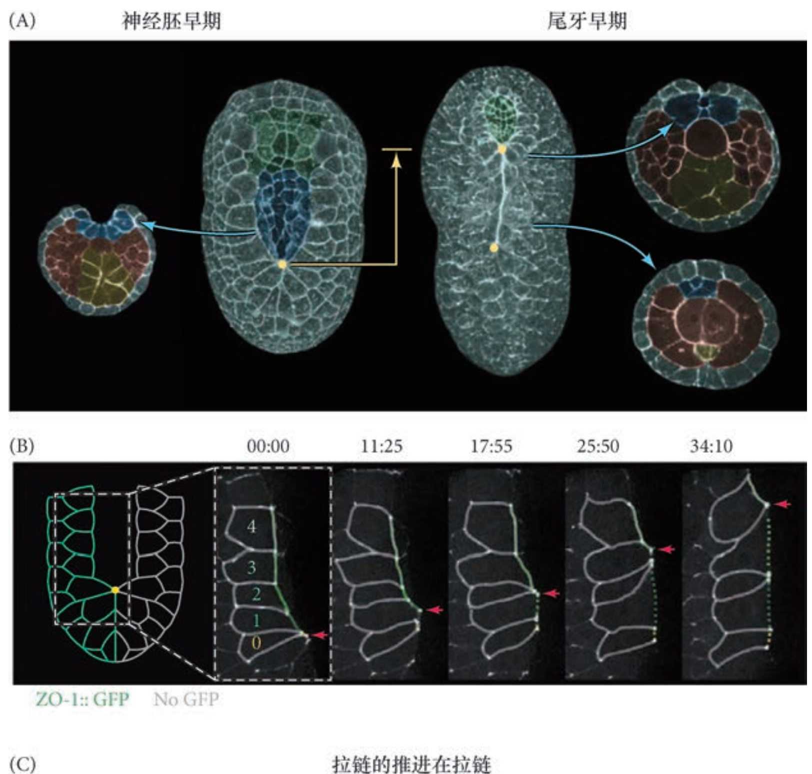
图 13.11 小鼠闭合位点 2（中脑区域）的神经管闭合。(A) 利用 CAG ∶ Venus^{myr} 转基因小鼠在 15 体节期胚胎的活体成像以显示所有的细胞膜。从上图到下图的背腹（横切面）光学截面显示背外侧铰合点的形成（左神经褶白色线的弯曲）到接近闭合的位点（逐渐变短的双向箭）。(B) 神经褶正在接触但未闭合时通过小鼠胚胎的光学截面。单层的非神经表面外胚层（大而扁平的细胞；绿色）在开始闭合的神经褶边缘将自身包裹在神经外胚层（蓝色）的周围。(C) 虚线显示神经和非神经外胚层之间的边界。来自非神经外胚层的细胞桥连接两个并置的神经褶。(D) 放大图显示来自右侧的一个细胞桥（箭头）(A 图来自 Massarwa and Niswander 2013；B ～ D 图来自 Pyrgaki et al. 2011，照片由 H. Ray 和 L. Niswander 提供）。


观察发育 13.1 通过观察活体小鼠胚胎完成神经管闭合的三个不同时期，使你更清晰地理解神经管的形成。

科学家讲座 13.1 Lee Niswander 博士讨论神经管闭合的网络会议。

在小鼠中观察神经管的拉链闭合过程揭示了融合时潜在的重要细胞行为，然而，是什么力量驱动相对神经褶的附着？为了更好地量化神经管拉链闭合的机制，我们将分析玻璃海鞘这一更为简单的无脊椎动物系统。被囊类（也称为海鞘类），如玻璃海鞘，通过初级神经胚形成而产生神经管，这包括一个从后向前非常类似于拉链的融合事件（**图 13.12A**；Nicol and Meinertzhagen 1988a，b；Hashimoto et al. 2015）。在神经管闭合过程中对表皮和神经细胞之间细胞膜连接点进行的活细胞成像揭示了一种在顶端细胞膜连接处依次交换连接的机制（**图 13.12B**）。在玻璃海鞘中，这种拉链式推进的驱动力可能是在紧邻拉链点的前部，表皮细胞的顶端细胞膜上肌动球蛋白收缩（即肌球蛋白在丝状肌动蛋白上的运动）的局部活化（**图 13.12C**）。在这些表皮细胞和相邻的神经外胚层的顶端细胞膜之间具有最大的连接张力。而且，抑制肌球蛋白能够阻止拉链的推进。这些结果说明细胞连接的逐步交换被肌动球蛋白顶端收缩的激活所启动，接下来，后部连接对拉链点的附着被解除，因此引起后部阻力的减少。这些连接交换的结果是表皮与神经的附着被表皮之间的黏附取代，因此神经管闭合得以推进（Hashimoto et al. 2015）。

融合和分离 神经管最终形成一个从表面外胚层分离的闭合圆筒。这种分离似乎受不同细胞黏附分子的表达所介导。尽管将要变成神经管的细胞最初表达上皮钙黏素，它们在神经管形成时停止表达这个蛋白质，转而合成神经钙黏素（**图 13.13A**）。这使表面外胚层和神经管组织不再彼此黏附。如果用实验的方法使表面外胚层表达神经钙黏素（将神经钙黏素的 mRNA 注射到 2 细胞期非洲爪蛙胚胎中的一个细胞），神经管从预定表皮的分离就会受到严重的阻碍（**图 13.13B**；Detrick et al. 1990；Fujimori et al. 1990）。在斑马鱼中，神经钙黏素的基因缺失也导致神经管无法形成（Lele et al. 2002）。Grainyhead 转录因子在这个过程中有特别重要的作用（Rifat et al. 2010；Ryrgaki et al. 2011）。例如，Grainyhead-like2 调



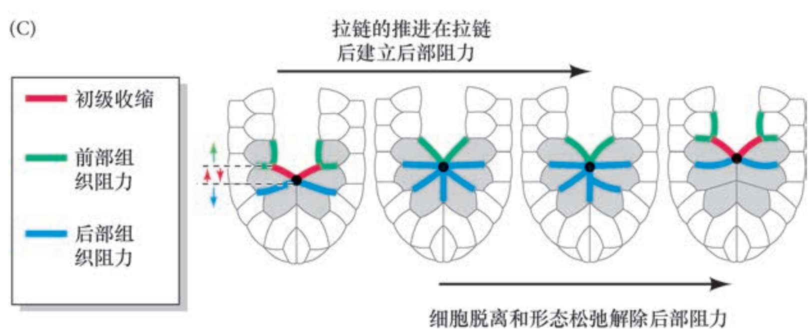
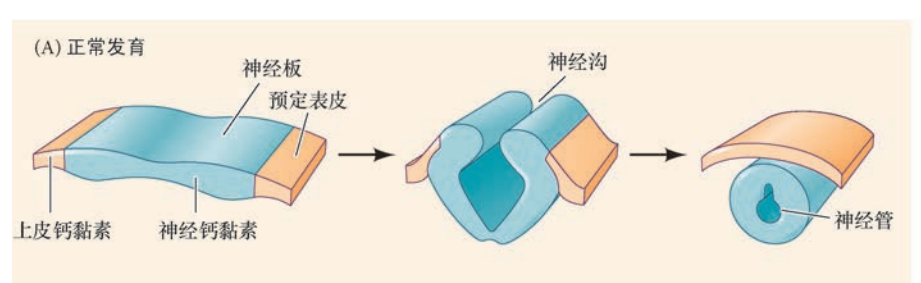


图 13.12 玻璃海鞘神经管的拉链式推进。(A) 玻璃海鞘胚胎在神经胚早期和尾芽早期被鬼笔环肽染色以标记细胞膜。在这些胚胎的两侧，相对应的横切面（蓝绿色箭所示）显示神经外胚层（蓝色）和非神经外胚层（灰色）。神经管的闭合以从后到前的方向进行，以黄色推进点和黄色箭表示。(B) 一个胚胎的延时成像显示左半半部分细胞的细胞膜表达绿色荧光蛋白 (GFP)。左侧的简图显示成像的区域。细胞膜的轮廓用颜色标记以显示重要的细胞连接。表皮之间的细胞连接标记为白色；表皮与神经细胞之间的连接用彩色标记。箭指示前端闭合点在前移过程中的位置。一个重要的观察是拉链点的前移与表皮到神经连接（实色线）和新形成的表皮到表皮连接（虚色线）的互换之间存在关联。(C) 拉链式推进的模型。肌球蛋白（红色）的收缩将拉链点向前拉到下一个细胞连接（绿色），这是后部附着被最终解除时发生的一个事件。ZO-1：紧密连接蛋白 -1（闭锁小带）（参考 Hashimoto et al. 2015）。



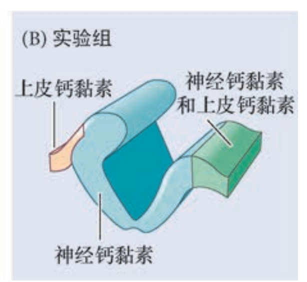


图 13.13 非洲爪蛙神经胚形成过程中神经钙黏素和上皮钙黏素蛋白的表达。(A) 正常的发育。在神经板时期，神经钙黏素表达在神经板，而上皮钙黏素表达在预定表皮。最终，表达神经钙黏素的神经细胞与具有上皮钙黏素的表皮细胞分离。神经嵴细胞既不表达神经钙黏素也不表达上皮钙黏素，它们进行扩散。(B) 在非洲爪蛙胚胎的一侧注射神经钙黏素的 mRNA，使表皮细胞和预定神经管都表达神经钙黏素，这时神经管与表皮不能发生分离。

控一系列细胞黏附分子，并在神经褶中抑制上皮钙黏素的合成。携带 *Grainyhead-like2* 或者 *Grainyhead-like3* 基因突变的小鼠有严重的神经管缺陷，包括裂面、露脑和脊柱裂（见图 13.10F 及科学家讲座 13.1；Copp et al. 2003；Pyrgaki et al. 2011）

神经管闭合缺陷 在人类，平均每 1000 个新生儿有 1 例神经管闭合缺陷。神经孔在发育的第 27 天左右不能闭合（闭合位点 5）将会导致一种**脊柱裂**（**spinal bifida**）的状态，其严重程度取决于脊髓的暴露程度。如果前端神经管的闭合位点 2 或闭合位点 3 不能闭合将会使前神经孔保持开放，这通常会导致一

种致死性状态，称为**无脑畸形**（**anencephaly**）。在这种情况下，前脑一直与羊水保持接触，随后发生退化。胎儿的前脑停止发育，颅穹隆不能形成（见图 13.11C）。整个神经管在全部体轴上都没有闭合的状态被称为**颅脊柱裂**（**craniorachischisis**）。

遗传和环境因素都能导致神经管闭合缺陷（Fournier-Thibault et al. 2009；Harris and Juriloff 2010；Wilde et al. 2014）。一些基因的突变，如 *Pax3*、*Sonic hedgehog*、*Grainyhead*、*Tfap2*、*Openbrain*，显示它们对哺乳动物的神经管形成是必不可少的；事实上，有 300 多个基因似乎参与神经管形成。环境因素，包括药物、母体饮食因素（如胆固醇和叶酸盐，亦称为叶酸或维生素 B_9）、糖尿病、肥胖和毒素，都能影响人的神经管闭合。这些因素如何导致神经管异常还很不清楚。一个新兴的观点假定环境干扰的主要结果是改变了胚胎的表观基因组，进而引起转录的变化，最终导致神经管异常（**图 13.14A**；Feil et al. 2012；Shyamasundar et al. 2013；Wilde et al. 2014）。这一观点主要是基于叶酸代谢的潜在下游后果。

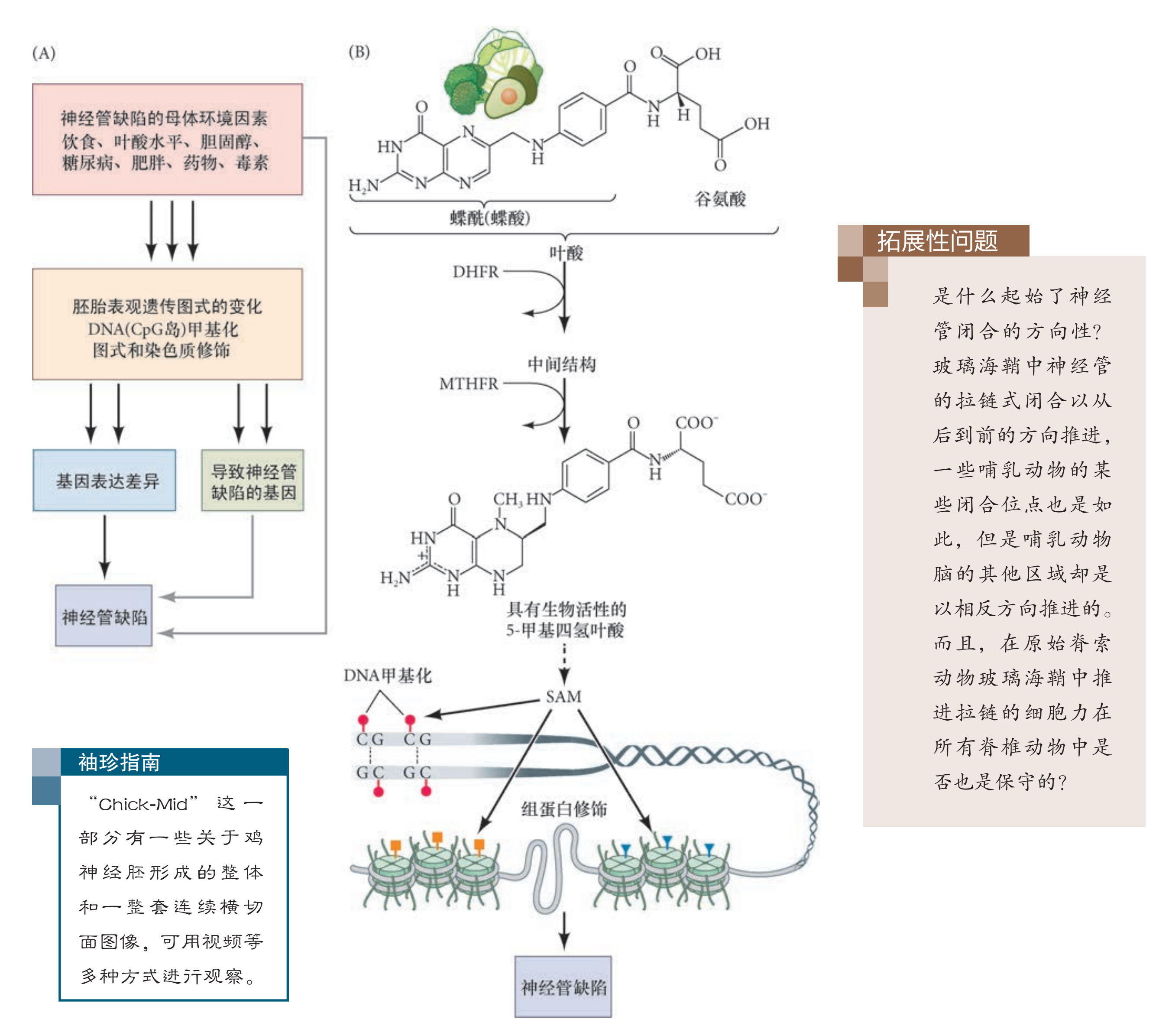


图 13.14 环境对神经管缺陷的影响和叶酸的作用。(A) 环境因素与神经管缺陷（NTD）之间联系的概观。大的色黑箭代表环境因素如何影响神经管缺陷的主要观点。小的箭代表可能导致神经管缺陷的其他方式。(B) 叶酸代谢通过 DNA 甲基化或组蛋白修饰引起表观遗传调节的简化生化途径。DHFR：二氢叶酸还原酶；MTHFR：亚甲基四氢叶酸还原酶；SAM：*S*- 腺苷甲硫氨酸。

袖珍指南

“Chick-Mid” 这一部分有一些关于鸡神经胚形成的整体和一整套连续横切面图像，可用视频等多种方式进行观察。

拓展性问题

是什么起始了神经管闭合的方向性？玻璃海鞘中神经管的拉链式闭合以从后到前的方向推进，一些哺乳动物的某些闭合位点也是如此，但是哺乳动物脑的其他区域却是以相反方向推进的。而且，在原始脊索动物玻璃海鞘中推进拉链的细胞力在所有脊椎动物中是否也是保守的？

尽管叶酸的确切作用尚不清楚，早期对叶酸拮抗剂的使用导致胎儿的神经管缺陷。从那时起，许多大规模的人类临床试验证明了神经管异常与叶酸缺陷之间的明确关联。这就是向孕妇推荐叶酸和系统性地强化食物中叶酸的原因（见 Wilde et al. 2014 综述）。叶酸缺陷如何导致神经管异常是目前的一个活跃研究领域。叶酸是一种重要的营养物，用于调节脑中细胞分裂时的 DNA 合成（Anderson et al. 2012），而且对调节 DNA 甲基化起关键作用（**图 13.14B**）。表观遗传机制对正确的神经发育至关重要的进一步证据是组蛋白修饰酶（乙酰转移酶、脱乙酰酶、甲基转移酶）的功能变化能导致神经管缺陷（Artama et al. 2005；Bu et al. 2007；Shpargel et al. 2012；Welstead et al. 2012；Murko et al. 2013）。无论叶酸的作用机制是什么，据估计，如果孕妇服用叶酸补充剂可以防止 25% ～ 30% 的人类神经管出生缺陷。因此，美国公共卫生署建议育龄妇女每天补充 0.4 mg 叶酸（Milunsky et al. 1989；Center for Disease Control 1992；Czeizel and Dudas 1992）。

13.1.2　次级神经胚形成

次级神经胚形成发生在尾芽延伸期胚胎的最后端，以完全不同于初级神经胚形成的方式产生一个神经管（见图 13.4）。次级神经胚形成首先从未来外胚层和中胚层产生间充质细胞，然后这些细胞致密形成一个**髓索**（**medullary cord**），位于外胚层的下方（**图 13.15A，B**）。在这种间充质到上皮转换之后，髓索的中央部分经历空腔化形成一些中空的空间，或**空腔**（**lumen**），这些空腔再合并形成一个中央的腔（**图 13.15C，D**；Schoenwolf and Delongo 1980）。

我们已经看到，当亨氏结迁移到胚胎的后端时，上胚层的尾部区域含有一些前体细胞群体，它们随着胚胎躯干的延伸产生神经外胚层和轴旁（体节）中胚层（Tzouanacou et al. 2009）。将要形成后部（次级）神经管的外胚层细胞表达具有神经诱导能力的 *Sox2* 基因，而正在内移的中胚层细胞（它们在上胚层下部迁移时不再接触到高水平的骨形态发生蛋白）则不表达 *Sox2*。相反，正在内移的中胚层细胞表达 *Tbx6* 并形成体节（见第 17 章；Schimokita and Takahashi 2010；Takemoto et al. 2011）。Tbx6 转录因子抑制 *Sox2* 表达的能力可以解释为什么 *Tbx6* 基因纯合突变体小鼠具有三个后部神经管的奇怪表型（见图 17.4；Chapman and Papaioannou 1998；Takemoto et al. 2011）。在这些突变体中，两条棒状的轴旁中胚层变成神经

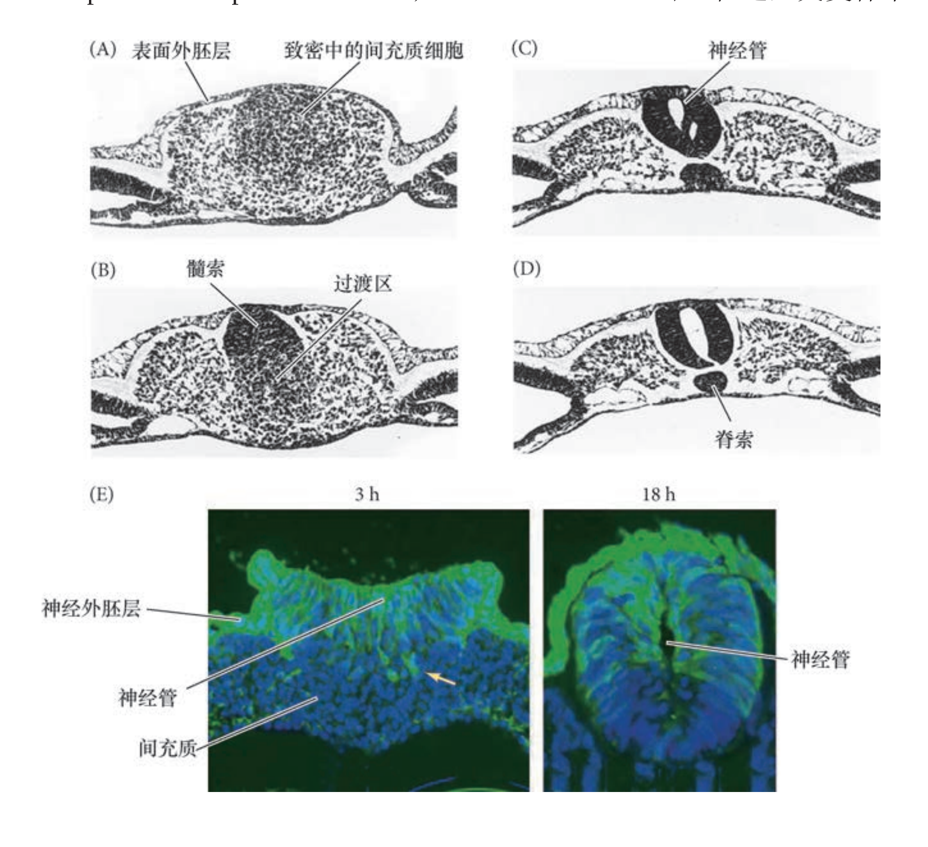


图 13.15　鸡胚胎尾部区域的次级神经胚形成。(A ～ D) 25 体节时的胚胎。(A) 间充质细胞在鸡尾芽的后端致密形成髓索。(B) 尾芽稍前部位置的髓索。(C) 神经管正在成腔，脊索正在形成。这时已经有几个分离的空腔。(D) 空腔合并形成神经管的中央管道。(E) 追踪交界处神经管区域表面胚盘层的细胞。交界区神经胚形成位置的原条表面细胞被永久性绿色荧光染料标记。细胞核用 DAPI 染成蓝色。标记后 3 h，表面细胞从上部的神经外胚层内移到间充质（箭所示），产生一个由两个位置的细胞所形成的神经管 3h：标记后 3 小时；18h：标记后 18 小时（A ～ D 图来自 Catala et al. 1995，　由 N. M. Le Douarin 提供；E 图来自 Dady et al. 2014）。

管，并且表达恰当的区域性基因（如 *Pax6*）。因此，原条前端周围的上胚层（尾侧部上胚层；见第 12 章）含有轴旁中胚层和神经板的共同前体储备，神经板部分将形成后脑后部和脊髓（Cambray and Wilson 2007；Wilson et al. 2009）。这种区分也突出了初级和次级神经胚形成的另一根本差异。在初级神经胚形成期间，表面外胚层和神经外胚层在神经管闭合与融合的整个过程中紧密连接，而在次级神经胚形成过程中，这两种组织基本不关联并且相互独立发育[2]。

在人和鸡的胚胎中，前部（初级）和后部（次级）神经管之间似乎有一个过渡区域。如前所述，位于这个过渡带的神经管形成被称为交界区神经胚形成（见图 13.4）。在人的胚胎中，过渡带区域发生空腔合并，但是神经管也通过神经板细胞的弯曲而形成。在鸡胚胎中，交界区的神经管是腹部间充质细胞和背部神经外胚层细胞的镶嵌体。除了直接为交界区神经管提供背部上皮细胞以外，神经板细胞也经历上皮到间充质转换并内移到下部的间充质储备（**图 13.15E**；Dady et al. 2014）。如果这两个神经管区域不能合并，就会导致后部神经管的异常（Saitsu et al. 2007）。鉴于人的后部神经管畸形的普遍性，进一步了解次级神经胚形成的机制可能具有重要的临床应用意义。

13.2 中枢神经系统的图式化

大部分脊椎动物脑的早期发育都是类似的（**图 13.16A ～ D**）。因为人脑可能是太阳系的物质中最为组织化的作品，并且无疑是动物界最令人关注的器官，我们将聚焦于构建智人（现代人）[3] 的发育。

13.2.1 前 - 后轴

哺乳动物的早期神经管是一个笔直的结构，但是在神经管的后部形成之前，神经管的最前端就开始经历急剧的变化。在前部区域，神经管膨胀出三个初级泡：**前脑**（**prosencephalon**）形成大脑半球；**中脑**（**mesencephalon**）的神经元参与动机、运动和抑郁（Niwa et al. 2013；Tye et al. 2013）；后脑，或**菱脑**（**rhombencephalon**），形成小脑、脑桥和延髓［脑的最原始区域和非自主运动（如呼吸）中心；**图 13.16E**］。当神经管的后端闭合时，次级脑泡已经形成，前脑变成端脑（形成大脑半球）和间脑（将形成起始眼发育的视泡）。

菱脑发育成一个分节的图式，特化产生一些神经的位置。一些称为**菱脑节**（**rhombomere**）的周期性膨胀将菱脑划分成更小的区室。菱脑节代表独立的“领土”，因为同一菱脑节内的细胞能自由混合，但是不能与来自相邻菱脑节的细胞混合（Guthrie and Lumsden 1991；Lumsden 2004）。每一菱脑节表达一个特定组合的转录因子，从而能够产生菱脑节特异图式的神经元分化。因此，每一菱脑节产生一些具有不同命运的神经元。我们在第 15 章将会看到，来自菱脑节的神经嵴细胞将形成**神经节**（**ganglion**），这是一些成簇的神经元细胞体，它们的轴突形成一条神经。每个菱脑节的神经节产生一种不同类型的神经。从菱脑节产生的颅神经在鸡中的研究最为详尽，其中，最早的神经元出现在偶数菱脑节 r2、r4 和 r6（**图 13.17**；Lumsden and Keynes 1989）。来自 r2 神经节的神经元形成第五（三叉）颅神经，来自 r4 神经节的神经元形成第七（面）和第八（前庭耳蜗）颅神经，来自 r6 神经节的神经元形成第九（舌咽）颅神经。

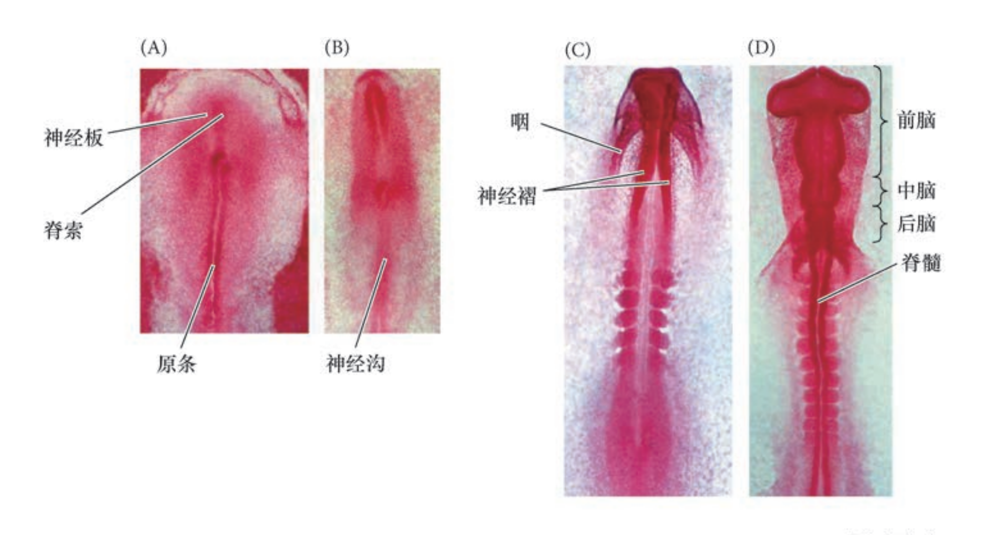
后脑和脊髓的前后图式化受控于包括同源异形基因复合物在内的一系列基因。关于前 - 后轴方向细胞命运图式化机制的详细内容，见网络话题 13.1 和网络话题 13.2。

网络话题 13.1 **划分中枢神经系统** 预定脑从预定脊髓的物理划分是通过在这两个区域的边界封闭神经管腔而实现的。

---

[2] 在斑马鱼中，神经（髓）索不能形成并不会阻止表面外胚层跨越背中线（Harrington et al. 2009）。

[3] 属于我们这个物种的名称来自拉丁语 sapio，意为“具有识别能力”。



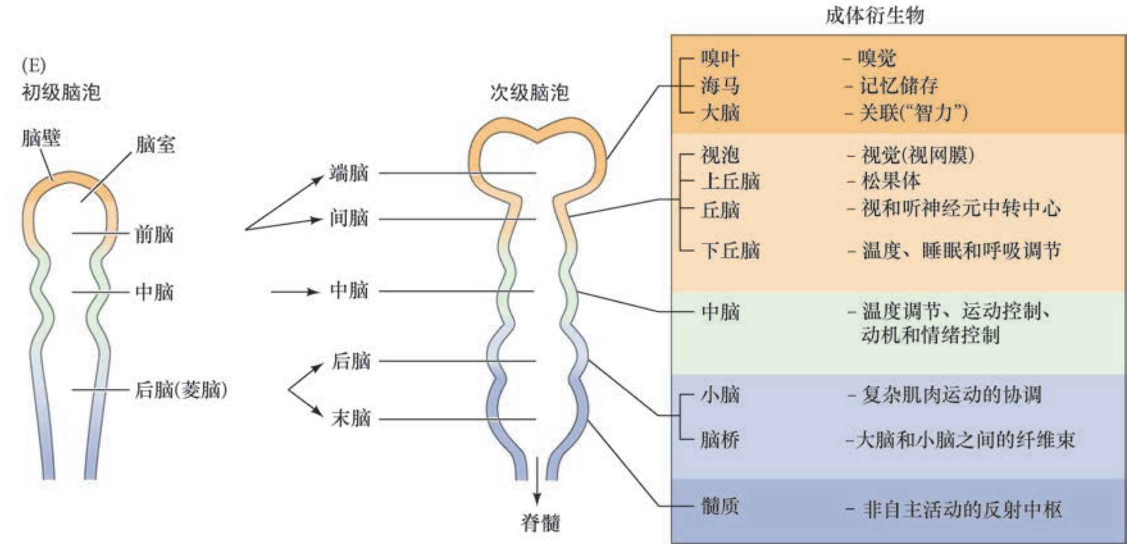


图 13.16　脑的早期发育和初始脑室的形成。(A ～ D) 鸡脑的发育。(A) 扁平的神经板及其下部的脊索（头突）。(B) 神经沟。(C) 神经褶开始在最背部区域闭合，形成初期的神经管。(D) 神经管，显示三个脑区和脊髓。神经管在前端仍然处在开放状态，视隆突（将变成视网膜）已经延伸到头部的侧缘。(E) 在人类，三个初始的脑泡随着发育的进行而再分隔。图的右侧列出成体中脑壁和脑室形成的衍生物以及它们的部分功能 (A ～ D 图由 G. C. Schoenwolf 提供；E 图参考 Moore and Persaud 1993)。

网络话题 13.2　**特化脑边界**　Pax 转录因子和旁分泌因子成纤维细胞生长因子 -8 对建立前脑、中脑和后脑的边界有至关重要的作用。

13.2.2　背 - 腹轴

神经管沿它的背 - 腹轴方向发生极化。例如，脊髓的背部是脊髓神经元接收感觉神经元输入的位置，而腹部是运动神经元所在的位置。在两者之间有众多的中间神经元，它们中转感觉和运动神经元之间的信息（图 13.18）。沿背 - 腹轴所组织形成的这些分化的细胞类型来源于邻近脑腔（脑室）的祖细胞群体，而这些群体沿前 - 后轴分布（也就是位于室管膜区）。每一个祖细胞区域可由其表达的一些特定转录因子来确定（如同源异形基因的产物），这些转录因子特化后代细胞，使它们分化成为构成中枢神经系统的特定神经元和神经胶质细胞 (Catela et al. 2015)。这就引出一个逻辑性问题：一个细胞如何感知它在神经管的位置从而发育成祖细胞群体，进而产生精确的类型和正确定位的神经元及神经胶质细胞？换而言之，神经管的图式是如何建立的？

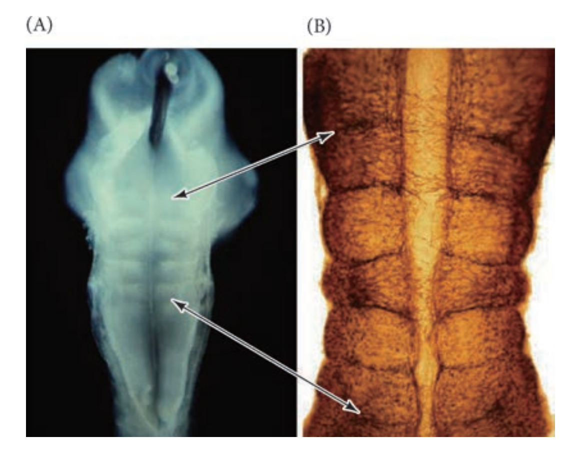


图 13.17 鸡后脑的菱脑节。(A) 第 3 天鸡胚胎的后脑。神经管顶板被去除，因而可见神经上皮的分节形态。上部的箭指示 r1 和 r2 边界，下部的箭指示 r6 和 r7 的边界。(B) 一个类似时期的鸡胚胎后脑，用神经丝亚基的抗体染色。着重显示菱脑节的边界，因为它们是神经元从脑的一侧穿越到另一侧的通道（来自 Lumsden 2004，由 A. Lumsden 提供）。

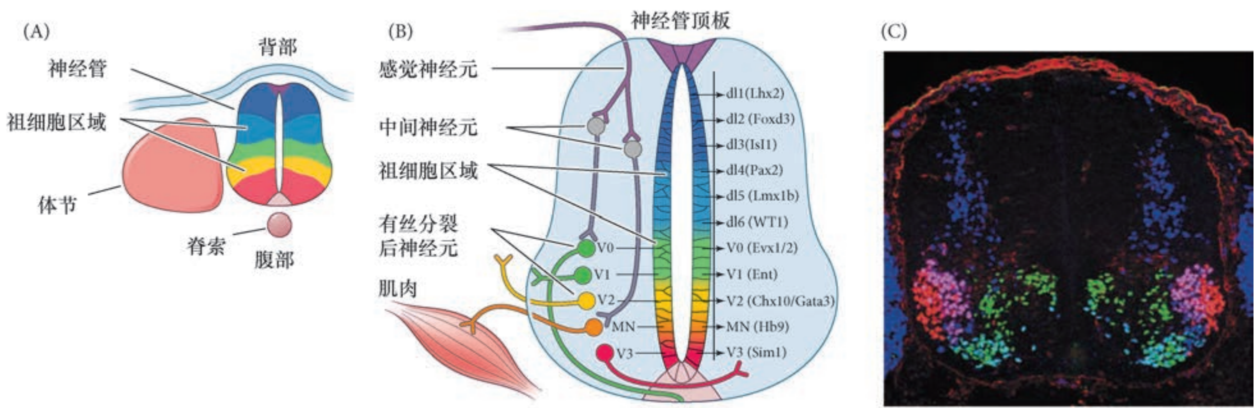


图 13.18 转录因子的差异性表达沿背 - 腹轴方向确定祖细胞区域和衍生的细胞类型。(A) 早期神经管由神经上皮前体细胞组成，根据它们独特的转录因子表达谱可被划分成一些离散的区域。Pax3 和 Pax7 确定最背部区域（深蓝色），Nkx6.1 在腹部表达（红色），Pax6 表达在神经管的中部（绿色）。这些转录因子表达位置的重叠进一步建立一些更局部的区域（黄色和浅蓝色）。(B) 这些祖细胞区随着神经管的发育而不断扩张，并随着它们不断完善的基因调控网络而进一步多样化，直到建立了完整的分化程序和产生了衍生的细胞类型（如图所示的不同神经元类型）。(C) 免疫荧光染色显示第 12.5 天小鼠胚胎颈部脊髓表达的 Isl1（蓝色）、Foxp1（红色）和 Lhx3（绿色）转录因子（A 图和 B 图来自 Catela et al. 2015；C 图由 Jeremy Dasen 提供）。

13.2.3 反向的形态发生素

神经管的背 - 腹极性受来自它的直接环境中的形态发生信号而诱导。腹部图式受脊索的影响，而背部图式则受上部表皮的诱导（**图 13.19A ～ D**）。两个主要的旁分泌因子起始背腹轴的特化：来自脊索的 Sonic hedgehog（Shh）蛋白和来自背部外胚层的转化生长因子 -β（TGF-β）蛋白（**图 13.19E**）。在这两种情况下，这些因子都在神经管中诱导一个次级信号中心。

脊索分泌的 Shh 诱导内侧铰合点细胞变成神经管的**底板**（**floor plate**）。底板细胞也分泌 Shh，这样就形成了神经管最腹部浓度最高的一个梯度（**图 13.19B，C，E**）。接触最高浓度 Shh 的细胞发育成运动神经元和一类 V3 中间神经元的祖细胞，而中等和低浓度的 Shh 诱导越来越背部的祖细胞群体（**图 13.19D，F，G**；Roelink et al. 1995；Briscoe et al. 1999）。

Shh 对图式化神经管腹部的重要性已经被很多实验证实，这些实验再次展示了“找到它、失去它、移动它”的原则（见网络话题 7.4 和相关的发育辅导课）。如果从一个胚胎中去除一段脊索，邻近缺失脊索区域的神经管将没有底板细胞（Placzek et al. 1990）。而且，如果从一个胚胎中取出一段脊索，然后移植到受体胚胎神经管的侧部，这将在邻近的受体胚胎神经管中诱导出另外一组底板细胞，并且在诱导的底板周围形成两侧定位的异位运动神经元（**图 13.20**）。如果用体外培养的 Shh 分泌细胞团来替代脊索片段，

图 13.19　神经管背腹轴的特化。(A) 新形成的神经管受两个信号中心的影响。神经管顶板接触来自表皮的骨形态发生蛋白 -4(BMP4) 和骨形态发生蛋白 -7(BMP7)，底板接触来自脊索的 Shh。(B) 神经管中次级信号中心的建立。顶板细胞表达并分泌 BMP4；底板细胞表达并分泌 Shh。(C) BMP4 建立转化生长因子 -β(TGF-β) 因子的一个嵌套级联，从顶板向腹部扩散到神经管。Shh 从底板细胞向背部扩散，形成一个梯度。(D) 脊髓神经元通过接触这些旁分泌因子的梯度而获得它们的特征。旁分泌因子的剂量和类型使不同的转录因子在这些细胞的核内激活，取决于它们在神经管中的位置。(E) 鸡的神经管，显示 Shh 的区域（绿色）和 dorsalin 蛋白的表达区域（蓝色；dorsalin 是转化生长因子 -β 超家族的成员）。一个特定浓度的 Shh 所诱导的运动神经元被染成橙 / 黄色。(F) Shh 的浓度、体外产生的特定神经元类型以及脊索的距离之间的关系。最接近脊索的细胞变成底板神经元；运动神经元和 V3 中间神经元在腹外侧形成。(G) 原位杂交检测其他三个转录因子的表达：Pax7（蓝色；背部神经管细胞的特征）、Pax6（绿色）和 Nkx6.1（红色）。在 Nkx6.1 和 Pax6 表达重叠的区域，运动神经元被特化 (E 图来自 Jessell 2000，由 T. M. Jessell 提供；F 图和 G 图参考 Briscoe et al. 1999，照片由 J. Briscoe 提供）。

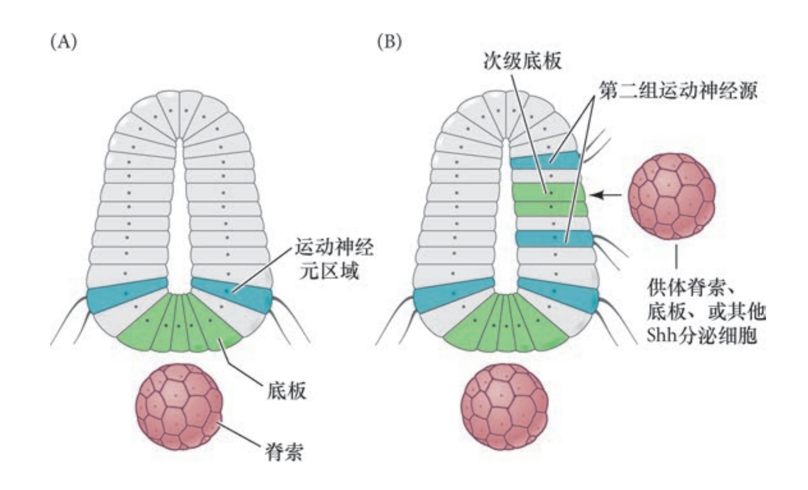


图 13.20　来自脊索的 Shh 诱导腹部神经管结构。(A) 最接近脊索的细胞变成底板神经元；运动神经元在腹外侧形成。(B) 如果第二个脊索、底板或者任何分泌 Shh 的细胞被放置在神经管附近，这将会诱导出另一组底板神经元，以及其他两组运动神经元（参考 Placzek et al. 1990）。

也可以得到同样的结果，这说明 Shh 本身足以诱导底板和相关的运动神经元（Echelard et al. 1993）。

神经管的背部命运由转化生长因子 -β 超家族的蛋白建立，特别是骨形态发生蛋白 -4、骨形态发生蛋白 -7、dorsalin、激活蛋白等（Liem et al. 1995，1997，2000）。最初，骨形态发生蛋白 -4 和骨形态发生蛋白 -7 在表皮表达。如同脊索在神经管腹部建立一个次级信号中心，即底板细胞，表皮通过诱导骨形态发生蛋白 -4 在神经管**顶板**（**roof plate**）细胞的表达而建立另一个次级信号中心。来自顶板的骨形态发生蛋白 -4 在邻近细胞中诱导一系列的转化生长因子 -β 蛋白（见图 13.19）。因此，背部细胞比腹部细胞接触更高浓度的转化生长因子 -β 蛋白，并且接触的时间也更早。斑马鱼突变体的表型证明了转化生长因子 -β 超家族成员图式化神经管背部的重要性。缺失某些骨形态发生蛋白的突变体不能形成背部和中间类型的神经元（Nguyen et al. 2000）。

多少和多久？ 这些形态发生素最终如何为神经管细胞提供位置信息？回想一下，祖细胞的特征受它表达的独特基因调控网络所决定。一个细胞所呈现的差异性基因表达体系取决于它距离形态发生信号中心的远近和接触形态发生信号中心的持续时间。邻近底板的细胞接收高浓度的 Shh，合成转录因子 Nkx6.1 和 Nkx2.2，并变成腹部（V3）中间神经元。位于它们的背部的细胞接触略低浓度的 Shh（和略高浓度的转化生长因子 -β），表达 Pax6 和 Olig2，变成运动神经元。另外，两组细胞接收浓度逐渐降低的 Shh，它们仅表达 Pax6 并变成 V2 和 V1 中间神经元。最后，神经管最背部的细胞表达 Pax7，变成背部祖细胞（见图 13.18；Lee and Pfaff 2001；Muhr et al. 2001）。

Shh 和转化生长因子 -β 信号的相交梯度曾被认为足以指令各种转录因子的合成，但这个调控网络要复杂得多，似乎整合了形态发生信号的时空分布。如果一些表达 Pax7 的中段神经管外植块接触浓度逐渐增高的 Shh，它们将停止表达 Pax7，并以浓度依赖性的方式表达 Olig2 和 Nkx2.2（**图 13.21A**）。如果同样的外植块更长时间地接触固定浓度的 Shh，它们首先表达 Olig2，然后 Nkx2.2 的表达水平逐渐升高（**图 13.21B，C**）。这些结果支持一个模型，Shh 的浓度及 Shh 信号的持续时间共同在神经管中诱导差异性的基因表达和细胞命运的图式化（Dessaud et al. 2007）。这个实验对胚胎中 Shh 的浓度和持续时间做出了一些假设，但通常这可能会更为复杂。

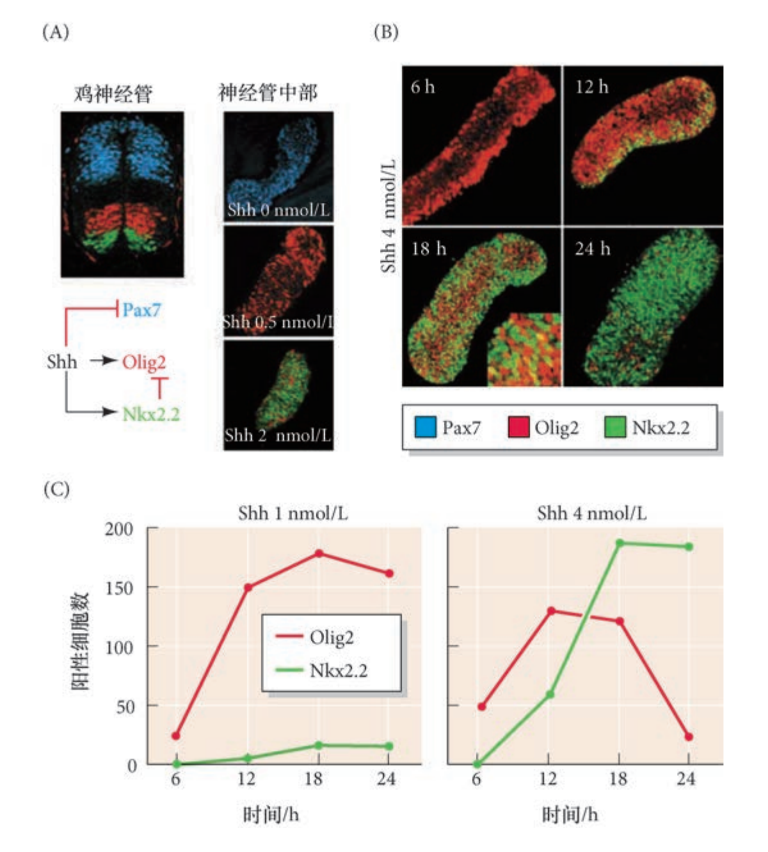


图 13.21 神经管基因的表达受 Shh 浓度和持续时间的影响。(A) 在鸡神经管的横切面中显示三个起决定作用的转录因子的表达：Pax7（最背部，蓝色）、Olig2（腹内侧，红色）和 Nkx2.2（最腹部，绿色）。神经管中部的外植块在没有 Shh 时表达 Pax7；但是，逐渐增加 Shh 的剂量时，Pax7 停止表达，Olig2 和 Nkx2.2 以浓度依赖的方式被诱导。这个结果说明 Shh 抑制 Pax7，但诱导 Olig2 和 Nkx2.2。已知 Nkx2.2 也抑制 *Olig2* 的转录。(B) 神经管中部的外植块最初接触 4nmol/L 的 Shh 时只表达 Olig2，接触更长时间时，Nkx2.2 的表达逐渐被诱导。(C) 这些数据的量化（来自 Dessaud et al. 2007）。

在脊椎动物中，Shh 信号的主要下游效应物是 Gli 家族的转录因子，在没有或有 Shh 的情况下，它们分别以转录阻遏物或激活物发挥作用（见图 4.30 中 Hedgehog 途径的综述）。因此，来自脊索和底板的 Shh 被转导成 Gli 激活物到阻遏物从腹部到背部的一个梯度。有意思的是，具有 Gli 激活物功能的细胞在小鼠神经管中的图式不仅形成一个梯度，而且也随着时间而变化（见网络话题 13.3；Balaskas et al. 2012；Cohen et al. 2015）。Gli 激活物功能的早期扩张与最初祖细胞转录因子的广泛和重叠表达相吻合，然而 Gli 的活性在神经管细胞的整个分化过程中并没有被维持。尽管 Shh 信号随时间的推移而减弱，祖细胞特异性转录因子的表达区域仍然变得高度精确，每一区域之间都有紧密的边界（见网络话题 13.3 的 G 部分）。这个结果表明 Shh 的这种水平和持续时间足以对细胞产生特化，但前提是必须有一个强健的基因调控网络来维持 Shh 诱导的基因表达图式（见 Briscoe and Small 2015 综述）。

网络话题 13.3 **Gli 的激活** 探索 Shh 信号如何沿背 - 腹轴建立 Gli 转录因子的梯度。

科学家讲座 13.2 Andy MacMahon 博士关于 Gli 激活物靶点的网络会议。

13.2.4 转录的交叉阻遏

祖细胞的基因调控网络通过转录的交叉阻遏机制直接参与祖细胞命运的强化、细化和维持，在这个过程中，一些转录因子相互阻遏。在祖细胞中进行的转录因子功能获得和缺失实验表明，不同的转录因子，如表达在邻近区域的 Olig2 和 Nkx2.2，能互相阻遏彼此的表达，从而帮助确定相邻区域之间的边界（**图 13.22**；Balaskas et al. 2012）。将转录的交叉阻遏整合在一个包含 Shh 的模型中就为一个细胞"记住"Shh 信号，因此为确定它在神经管的位置提供了一种机制（**图 13.23**；也见图 13.22F）。

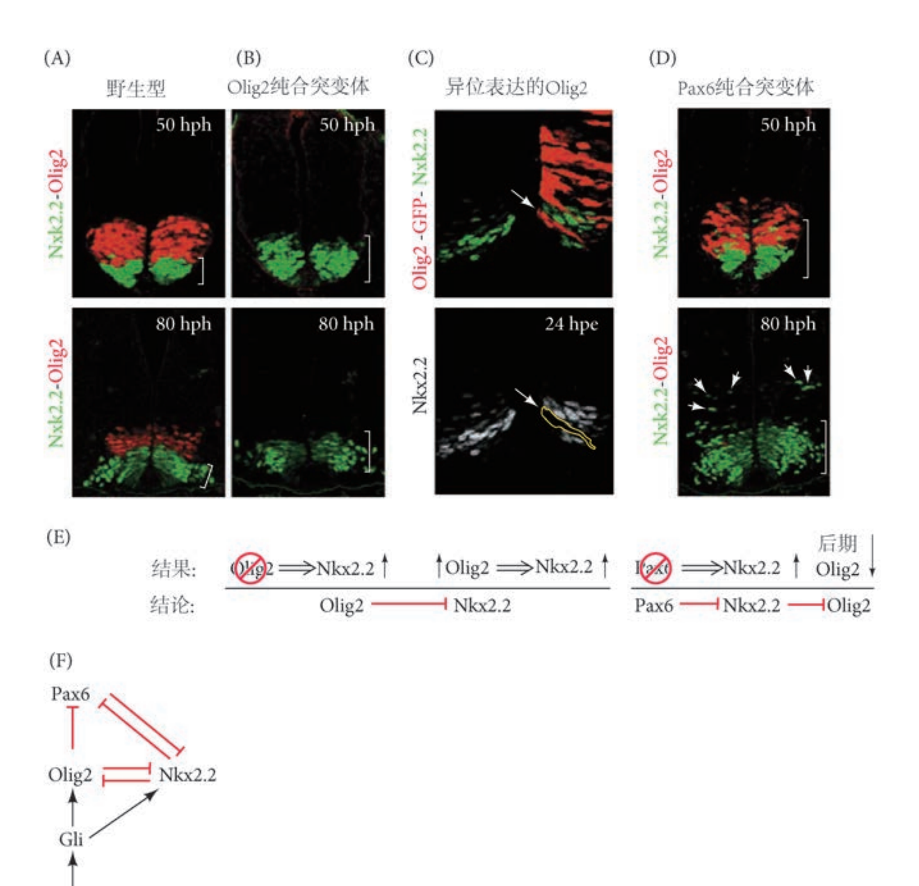


图 13.22 神经祖细胞中转录的交叉阻遏。(A ～ D) 在小鼠神经管的横切面中对表达 Nkx2.2、Olig2 和 GFP 的细胞进行标记。(B) 缺失 *Olig2* 时导致 Nkx2.2 表达区域的扩张（比较 A 和 B 中的括号）。(C) 通过电穿孔法异位表达 *Olig2* 显示这个基因的功能获得能够抑制 Nkx2.2 的表达（箭所示，黄色轮廓线）。(D) 缺失 *Pax6* 基因时导致 Nkx2.2 在早期和晚期的显著扩张（比较 A 图中的括号和 C 图及 D 图中的箭和括号），但是 Olig2 只在晚期缺失 (80 hph)。hph：头褶期以后的小时数；hpe：电穿孔后的小时数。(E) 速记说明实验操作和结果（上线），以及从这些结果中所得出的结论（下线）。(F) 综合 Gli（受 Hedgehog 途径激活）、Olig2、Nkx2.2、Pax6 转录因子的基因调控网络（来自 Balaskas et al. 2012）。

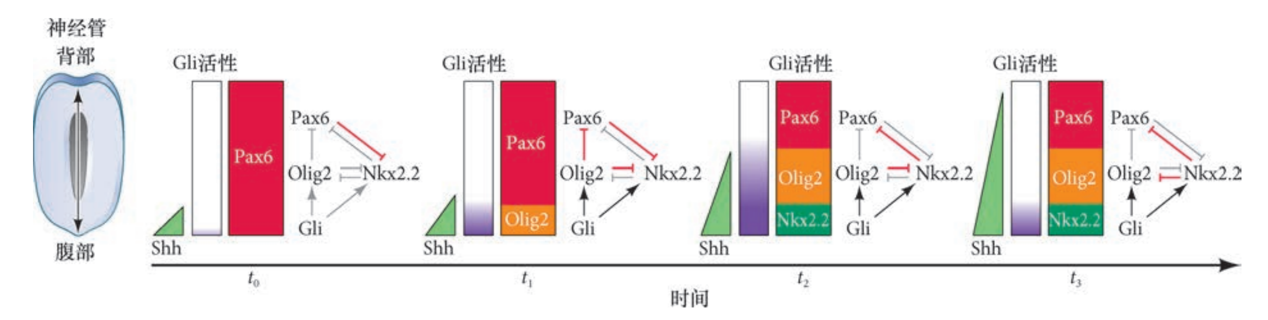


图 13.23 解释 Shh 形态发生素梯度的模型。神经管腹部受信号介导的图式化。在诱导的最早期 (t_0-t_1)，来自脊索的 Shh（绿色三角）在底板细胞诱导 Gli（紫色）。这个作用不足以激活 Olig2 和 Nkx2.2，或抑制 Pax6。随着发育的进行，Gli 能诱导 Olig2，而 Olig2 抑制 Nkx2.2 和 Pax6。因为最腹部的细胞更长时间地接触高浓度的 Shh，Nkx2.2 被激活，它抑制 Olig2。即使 Gli 的水平降低，这个图式仍然能被维持（参考 Balaskas et al. 2012）。

科学家讲座 13.3 James Briscoe 博士关于神经管图式化和 Shh 的网络会议。

13.3 综合所有的轴向

转化生长因子 -β 和 Shh 形态发生素介导的背 - 腹图式化模型沿前 - 后轴方向在整个中枢神经系统中调节细胞命运。但是不要忘记，神经管前部和最后部区域的形成方式存在差异，也就是初级和次级神经胚形成所限定的差别。神经管前部区域（形成脑和大部分脊髓）的祖细胞直接从上胚层获得一种前神经的命运（Harland 2000；Stern 2005）。后部的细胞最初是双潜能的**神经中胚层祖细胞**（**neuromesodermal progenitor，NMP**），这些细胞经历一个转换而变成神经细胞或者体节细胞类型，其中神经细胞形成神经管的尾端（**图 13.24**）。在尾芽延伸过程中，神经中胚层祖细胞产生于尾部外侧的上胚层，并受成纤

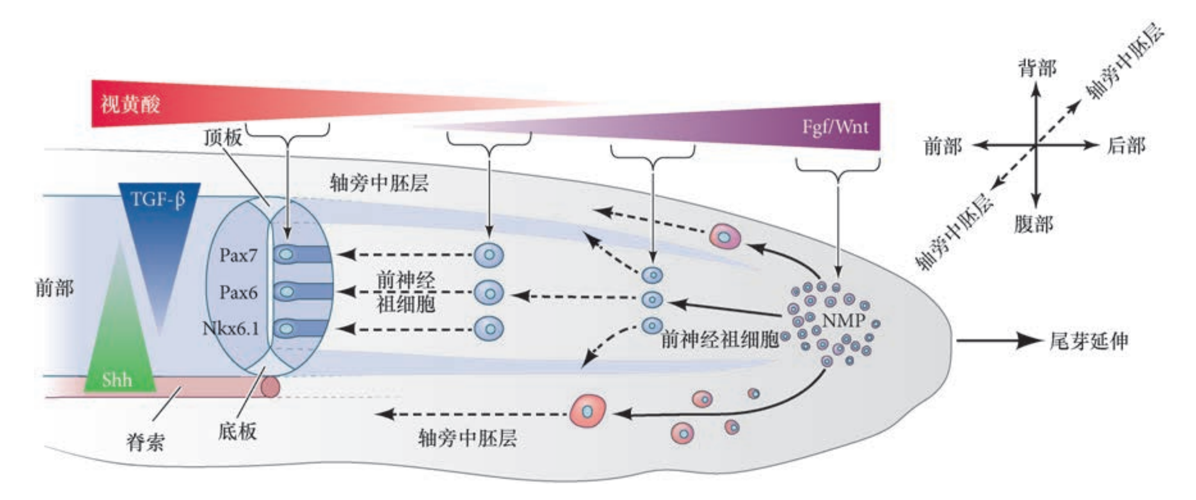


图 13.24 汇聚的信号使发育的脊髓尾部神经祖细胞成熟和特化的模型。在脊髓的发育过程中，尾部不断经历延伸，在一定程度上受尾部外侧上胚层的推动，这个上胚层含有增殖性和运动性的神经中胚层祖细胞（NMP）。这些细胞离开尾芽后，或者进入神经间充质以形成神经管，或者进入轴旁中胚层间充质以形成体节。虚线箭指示那些将参与形成对应的神经管区域的细胞，但是这些细胞并不是活跃地迁移到那些区域。反向的拮抗性视黄酸和成纤维细胞生长因子 /Wnt（Fgf/Wnt）形态发生素沿前 - 后轴建立了相反的梯度，沿这个轴向设置了梯度性的位置指令。高浓度的成纤维细胞生长因子 /Wnt 维持神经中胚层祖细胞储备。中等浓度的成纤维细胞生长因子 /Wnt 和低浓度的视黄酸促进早期前神经祖细胞应答转化生长因子 -β（TGF-β）和 Shh 背腹信号，使它们分别发育成顶板（RP）或者底板（FP）。随着尾芽的继续延伸，前神经祖细胞将接触低浓度的成纤维细胞生长因子 /Wnt 和中等浓度的视黄酸，这将拓展它们起始前神经祖细胞群体特异性基因调控程序的能力。通过这种方式，形态发生素沿所有轴向图式化神经管的细胞命运。

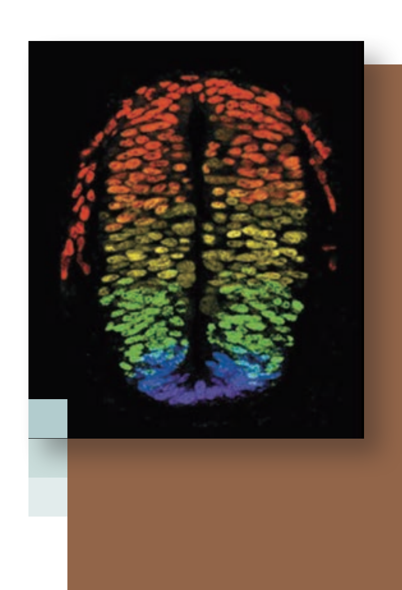
纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt 信号的正向维持（见第 17 章关于体轴延伸的细节）。与尾部的成纤维细胞生长因子 /Wnt 信号相对立，视黄酸表达在体节中胚层并抑制纤维细胞生长因子 -8 信号。正是这些在前 - 后轴方向上相互拮抗的视黄酸和成纤维细胞生长因子 /Wnt 梯度建立了一个使神经中胚层祖细胞成熟的“道路”。一个神经中胚层祖细胞首先在尾芽产生，然后进入间充质（经历次级神经胚形成）。进入神经间充质的神经中胚层前体细胞变成前神经祖细胞，并且在最初具有应答 Shh 或者骨形态发生蛋白信号的能力，分别分化成为底板或者顶板。随着尾芽的延伸，这些神经中胚层祖细胞变得远离成纤维细胞生长因子 /Wnt，但更接近视黄酸；这种重新定位触发它们对 Shh/ 转化生长因子 -β 信号应答的切换，从而沿着成熟过程中的神经管的背 - 腹轴方向图式化前神经祖细胞（Sasai et al. 2014；Gouti et al. 2015）。

拓展性问题

我们已经描述了一个精细的形态发生体系，它将位置信息转化为细胞特征的发育。如果应答细胞不是静止的而是移动的，那会出现什么情况？这个差别将会怎样改变梯度解读的动态？ Magason 实验室的工作显示，斑马鱼神经管中被特化的祖细胞的确在上皮附近不断运动，将自身分选成一些离散的区域（Xiong et al. 2013）。因此，神经管图式形成的模型需要整合形态发生信号中细胞运动的新动态。

下一步的研究

据估计，孕妇补充叶酸能够预防很大一部分的人类神经管出生缺陷。神经管闭合发生在人类妊娠的早期，通常是在妇女意识到自己怀孕之前。因此，美国公共卫生署建议生育期妇女每天补充 0.4 mg 叶酸（Milunsky et al. 1989；Centers for Disease Control 1992；Czeizel and Dudas 1992）。但是，我们还不了解叶酸缺乏导致神经管缺陷的直接机制。深入了解联系叶酸功能和神经发育的机制将会提供新的治疗机遇。尽管苹果不错，但是芦笋的叶酸含量是苹果的 20 倍。所以，我们可以说“每天一碗芦笋，医生远离我”。



开篇图的思考

这一漂亮的神经管彩虹图是巴塞罗那分子生物研究所 Elisa MartÍ Gotrostiza 实验室的杰作。它来自连续切片上转录因子标记的合成照片。每一种不同颜色标记的转录因子表达在背 - 腹轴方向的一个离散区域。根据它们在这个轴上的位置，细胞将差异性地解读梯度性形态发生素，并且它们的解读将通过激活一组特定的调节性转录因子而推动这些细胞的特化。Sonic hedgehog 的时间值是什么？我们在本章发现，不仅 Sonic hedgehog 形态发生素的浓度很重要，而且细胞经历 Hedgehog 途径激活的持续时间也同样重要。如果有变成更腹部的标准，那么这可能是一个细胞“存储”Hedgehog 激活的时间越长，它就会变成更腹部的神经管细胞类型（照片由 E. M. Gorostiza 提供）。

13 要点总结

神经管的形成和图式化

1. 神经管由神经板的成形和折叠而形成。在初级神经胚形成中，表面外胚层折叠成一个管，然后

从表面外胚层分离。在次级神经管形成中，外胚层和中胚层细胞合并成间充质以形成一条索，然后在这个索的内部形成一个室（空腔）。

2. 初级神经胚形成受内力和外力的调节。内在的楔入发生在铰合区的细胞内，将神经板弯曲。外力包括表面外胚层向胚胎中央的移动。
3. 神经管的闭合也是外力和内力作用的结果。在人类，如果神经管不能闭合将会导致先天异常。叶酸对于神经管闭合起重要作用。
4. 原结到达上胚层的后部时，一些细胞参与形成轴旁中胚层和神经管。
5. 神经嵴细胞来自神经管和表面外胚层的边缘。它们位于神经管和表面外胚层之间，并从这个区域前移出去，变成周围神经、神经胶质和色素细胞。
6. 在许多胚胎（特别是羊膜动物）中都存在一个成熟的梯度，以至于前部比后部发育得更早。
7. 脑形成三个初级泡，即前脑、中脑、菱脑（后脑）。前脑和菱脑将进一步细分。
8. 神经管的背 - 腹图式化是由表面外胚层和神经管顶板分泌的转化生长因子 -β 超家族蛋白，以及脊索和底板细胞分泌的 Sonic hedgehog 建立的。Shh 的时空梯度触发特化神经上皮的特定转录因子的合成。其中一些转录因子显示交叉阻遏，使一些离散的边界沿背 - 腹轴的一些区域之间形成。
9. 在神经板尾端的次级神经胚形成产生双潜能的神经中胚层祖细胞，它们能变成神经或体节细胞。前神经祖细胞与成纤维细胞生长因子 /Wnt 以及视黄酸这两个反向梯度的接触使神经管尾端沿背 - 腹轴图式化。

拓展阅读

Balaskas, N. and 7 others. 2012. Gene regulatory logic for reading the Sonic hedgehog signaling gradient in the vertebrate neural tube. *Cell* 14: 273–284.

Chiang, C., Y. Litingtung, E. Lee, K. E. Yong, J. L. Corden, H. Westphal and P. A. Beachy. 1996. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 383: 407–413.

Cohen, M., A. Kicheva, A. Ribeiro, R. Blassberg, K. M. Page, C. P. Barnes, and J. Briscoe. 2015. Ptch1 and Gli regulate Shh signalling dynamics via multiple mechanisms. *Nature Commun.* 6: 6709.

Dady, A., E. Havis, V. Escriou, M. Catala, and J. L. Duband. 2014. Junctional neurulation: A unique developmental program shaping a discrete region of the spinal cord highly susceptible to neural tube defects. *J. Neurosci.* 34: 13208–13221.

Gouti, M., V. Metzis and J. Briscoe. 2015. The route to spinal cord cell types: A tale of signals and switches. *Trends Genet.* 31: 282–289.

Hashimoto, H., F. B. Robin, K. M. Sherrard and E. M. Munro. 2015. Sequential contraction and exchange of apical junctions drives zippering and neural tube closure in a simple chordate. *Dev. Cell* 32: 241–255.

Jessell, T. M. 2000. Neuronal specification in the spinal cord: Inductive signals and transcriptional codes. *Nature Rev. Genet.* 1: 20–29.

Lawson, A., H. Anderson and G. C. Schoenwolf. 2001. Cellular mechanisms of neural fold formation and morphogenesis in the chick embryo. *Anat. Rec.* 262: 153–168.

Massarwa, R. and L. Niswander. 2013. In toto live imaging of mouse morphogenesis and new insights into neural tube closure. *Development* 140: 226–236.

McShane, S. G., M. A. Molè, D. Savery, N. D. Greene, P. P. Tam and A. J. Copp. 2015. Cellular basis of neuroepithelial bending during mouse spinal neural tube closure. *Dev. Biol.* 404: 113–124.

Milunsky, A., H. Jick, S. S. Jick, C. L. Bruell, D. S. Maclaughlen, K. J. Rothman and W. Willett. 1989. Multivitamin folic acid supplementation in early pregnancy reduces the prevalence of neural tube defects. *J. Am. Med. Assoc.* 262: 2847–2852.

Sasai, N., E. Kutejova and J. Briscoe. 2014. Integration of signals along orthogonal axes of the vertebrate neural tube controls progenitor competence and increases cell diversity. *PLoS Biol.* 12(7):e1001907.

Wilde, J. J., J. R. Petersen and L. Niswander. 2014. Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. *Annu. Rev. Genet.* 48: 583–611.

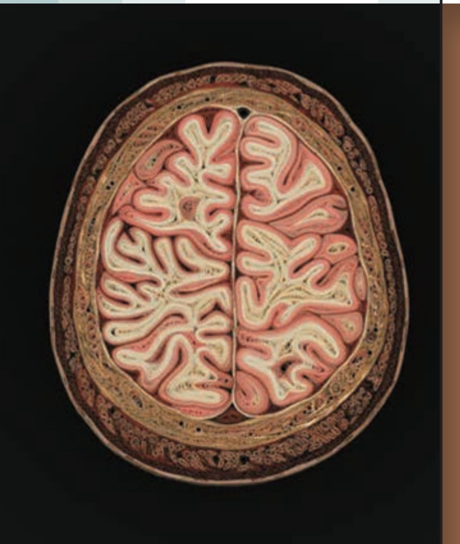
浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 14 章

脑生长

人类的复杂性：它们折叠得有多深？



“最迷人的问题也许是脑是否强大到足以解决它本身如何被创造的问题”，Gregor Eichele 在 1992 曾这样断言。确定脑——一个用于感知、思考、爱、恨、记忆、变化、自我欺骗，以及协调我们全部的有意识和无意识的肌体活动的器官，是如何构建形成的，这毫无疑问是所有发育奥秘中最具挑战性的问题。在遗传、细胞和系统水平上进行的综合研究使我们对脑的基本解剖结构如何变得组织有序具备了一个非常初步的认识。

神经管以三种不同的方式同时分化成脑和脊髓的各种区域。在大体的解剖水平上，神经管及其空腔通过膨胀和收缩以形成脑泡和脊髓泡。在组织水平上，神经管壁的细胞群体将自身排列成脑和脊髓的不同功能区域。最后，在细胞水平上，神经上皮细胞分化成体内众多的神经细胞，［即**神经元**（**neuron**）］和相联结的细胞［即**神经胶质**（**glia**）］。我们在这一章将主要讨论整体水平上的哺乳动物脑发育，在考虑是什么使我们成为人类时，我们也将特别关注人脑的发育。

要点

脑的生长起始于新形成的神经管沿顶 - 基轴在三个区域的扩张：室管膜区、套区或中间区和边缘区。称为放射状胶质的干细胞贯穿这个神经上皮，并增殖以产生祖细胞和神经元。新生的神经元利用放射状胶质所产生的放射状定向的纤维向边缘区迁移。在大脑皮质，基部聚集的 Reelin 蛋白梯度调节迁移性神经元有序地“由内向外”成层。伯格曼神经胶质与放射状胶质具有类似的作用，但它们在小脑中产生浦肯野神经元。这些干细胞的自我更新和成神经潜能受多种因素影响，包括有丝分裂纺锤体的定向、亲代中心粒和纤毛的继承、Notch 信号的分隔和来自脑脊液的促分裂因子。大而复杂的人脑通过改变控制小脑的神经发生机制而演变出来，这就是放射状胶质祖细胞群体的扩张和独特神经发生基因的差异性表达。神经发生并不在出生时停止，而是在整个生命过程中以不同的形式维持活跃状态。

14.1 发育的中枢神经系统的神经解剖学

你的脑含有大约 1700 亿个细胞，神经元和相联结的神经胶质细胞各占一半（Azevedo et al. 2009）。从相对较小（如颗粒细胞）到相对巨大（如浦肯野神经元），有种类繁多的神经元和神经胶质细胞类型。这种多样化起始于神经管的局限性多能神经上皮细胞。

14.1.1 发育的中枢神经系统细胞

胚胎神经干细胞 神经上皮细胞是胚胎中最初的局限性多能神经干细胞。它们组成神经板和早期神经管，作为上皮细胞，它们沿顶 - 基底轴方向发生极化（图 14.1A）。一旦神经板闭合成神经管，神经上皮的顶端表面就与神经管的内腔接触，管腔内部充满脑脊液。每个细胞的基底表面终止于**终足**（**endfeet**），也就是神经管外表面基底膜的膨大。中枢神经系统的表面也称为**软脑膜表面**（**pial surface**），这个名称来自软膜，是环维神经组织的纤维性膜。作为干细胞，神经上皮细胞具有高度的增殖性，能为神经管中最初的神经元和神经胶质细胞类型产生祖细胞（Turner and Cepko 1987）。

神经上皮细胞只存在于早期胚胎，它们最终转变成**室管膜细胞**（**ventricular cell**，或 **ependymal cell**）和**放射状胶质细胞**（**radial glial cell**，或 **radial glia**）。室管膜细胞是神经管内衬的组成部分并且分泌脑脊液。放射状胶质[1]维持一个极化的形态，跨越中枢神经系统的顶 - 底轴，并行使两个主要的功能。首先，它们在整个胚胎和胎儿发育过程中作为主要的神经干细胞，显示自我更新能力和产生神经元及胶质细胞的局限多能性（Doetsch et al. 1999；Kriegstein and Alvarez-Buylla 2009）；其次，它们作为其他祖细胞和新生神

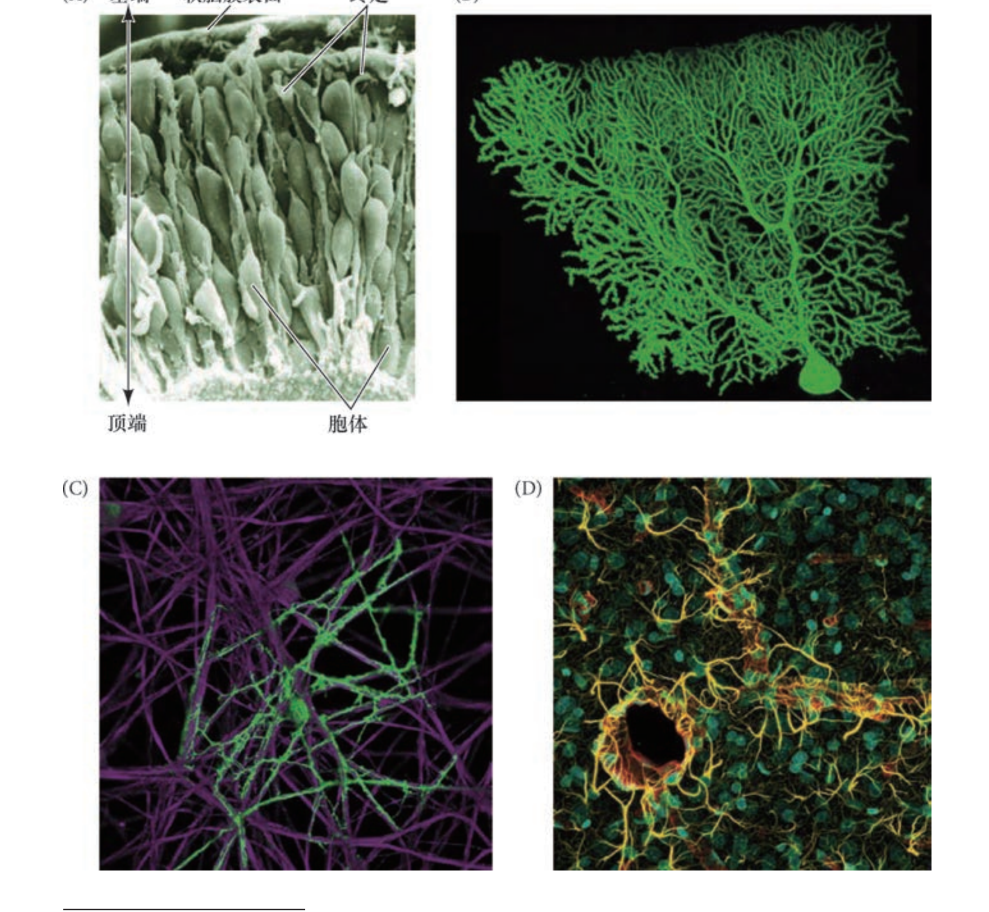


图 14.1 中枢神经系统的细胞类型。(A) 新形成的鸡神经管的扫描电镜图，显示处在细胞周期不同阶段的神经上皮细胞跨越神经上皮的整个宽度。(B) 具有精细树突的浦肯野神经元。如果你仔细观察，这些树突不是模糊的，相反，称为树突棘的突触后膜突出隐约可见。(C) 来自小鼠海马的单个少突胶质细胞（绿色）在体外共培养条件下包裹多个轴突（紫色）。(D) 大鼠大脑皮质的星形胶质的终足（黄色）包裹血管（红色）。细胞核是蓝绿色（A 图由 K. Tosney 提供；B 图由 Boris Barbour 提供；C 图来自 Fields 2013，由 Doug Fields 提供；D 图的照片由 Madelyn May 拍摄，获得 2011 年奥林巴斯生物数码成像大赛佳作奖）。

[1] 越来越多的证据显示放射状胶质是一个异质性的神经干细胞和祖细胞群体。

经元迁移的支架（Bentivoglio and Mazzarello 1999）。这两个功能提供了驱动脑生长的根本机制。

神经元和神经　**神经元**（**neuron**）是传导电势能并将这些电脉冲转化为协调我们的肌体功能、思想、感觉和感知的信号的细胞。神经元具有一些细而分支的延伸，称为**树突**（**dendrite**），用于接收来自其他细胞的电脉冲（图 14.2A）。有些神经元只发育出少数的树突，而其他神经元（如浦肯野神经元；图 14.1B）发育出广泛分支的**树突丛**（**dendritic arbor**）。在出生时皮质神经元只有极少的树突，然而，在人类生命的第一年所发生的一些神奇事件之一就是这些感受性细胞突出数目的增加。在这一年，每个皮质神经元发育出足够的树突表面，能容纳多达 10 万个与其他神经元的连接或**突触**（**synapse**）。在高度发育的人类大脑皮质中，平均每个神经元与 1 万个其他神经细胞相连接，使得人类大脑皮质成为学习和思考的中心。

发育中的神经元的另外一个重要特征是它的**轴突**（**axon**）。树突的数目通常很多，但并不远离神经元细胞体或**胞体**（**soma**），而轴突可以延伸至 2 ～ 3 ft（英尺，1ft=30.48 cm；见图 14.2A）。例如，你的大脚趾的痛觉感受器必须将信息一直传到脊髓。神经生物学的一个基本概念就是轴突属于神经细胞体的连续延伸。细胞体之间的神经连接过程由胞体到胞体的轴突所建立，这是神经发育中被研究得最多的事件之一。我们将在第 15 章描述，为了使胚胎的脑“接通电源”，一些轴突从细胞体延伸，被它们前端的一个运动性生长锥所引导，这个生长锥利用充满信息的环境将自身导向至靶点而形成突触连接。

神经元信号　称为**神经递质**（**neurotransmitter**）的各种不同分子对产生很多动作电位至关重要。轴突被专门用于分泌一些能够穿过一个小间隙的特定神经递质，这个间隙，即**突触间隙**（**synaptic cleft**），将一个信号神经元的轴突与其靶细胞的树突或胞体分隔开。一些神经元具有合成和分泌乙酰胆碱（第一个被描述的神经递质）的能力，而其他神经元发育出一些酶途径来合成和分泌肾上腺素、去甲肾上腺素、章胺、谷氨酸、5- 羟色胺、γ- 氨基丁酸（GABA）或多巴胺，以及其他神经递质。每个神经元必须激活一组基因，这些基因编码一些合成其神经递质的酶。因此，神经元的发育既涉及结构，也包括分子的分化。

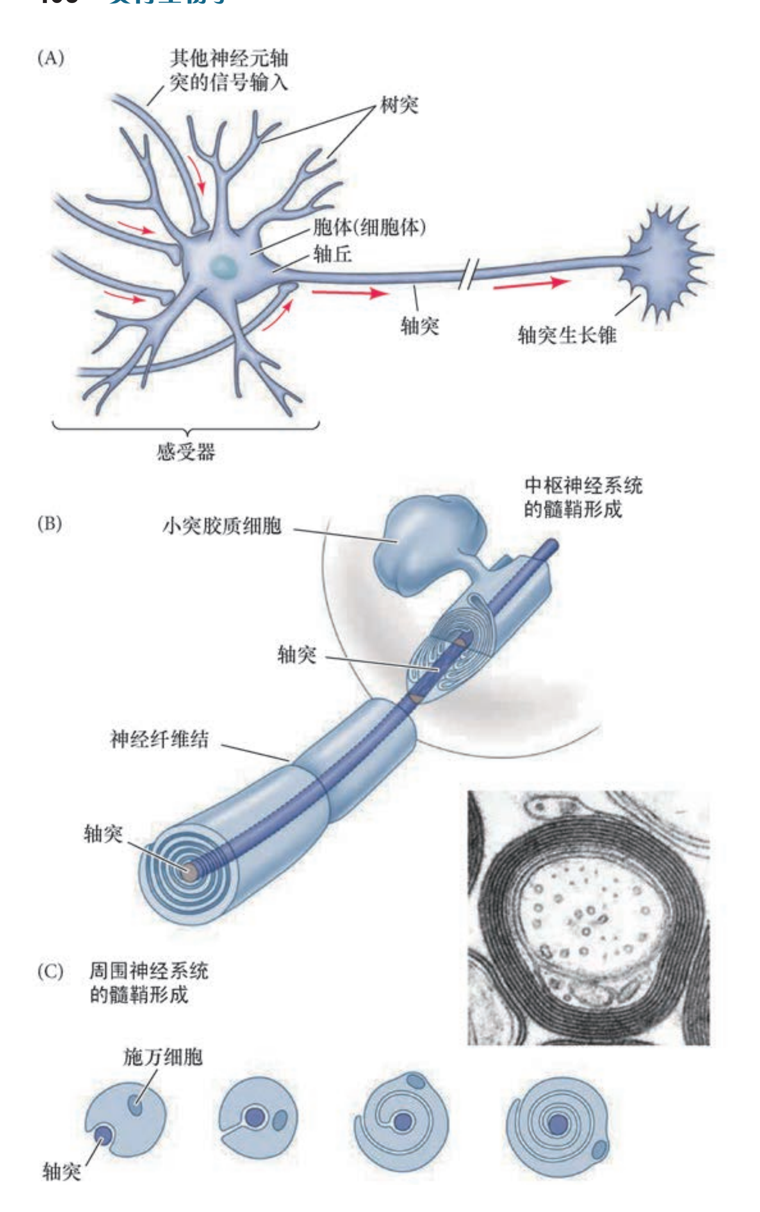
神经胶质细胞　有三类胶质细胞：少突胶质细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞。神经元通过电脉冲传递信息，这些电脉冲沿轴突从身体的一个位置传送到另一个位置。为了防止电信号的消散和帮助信号传递到靶细胞，中枢神经系统的轴突通常被**少突胶质细胞**（**oligodendrocyte**）绝缘（图 14.1C）。少突胶质细胞将自身包裹在发育中的轴突上，产生一个称为**髓鞘**（**myelin sheath**）的特殊细胞膜（图 14.2B）。在周围神经系统（即中枢神经系统以外的所有神经和神经元），髓鞘的形成由称为**施万细胞**（**Schwann cell**）的一种类似类型的胶质细胞来完成（图 14.2C）。一些移植实验表明，轴突（而不是胶质细胞）通过分泌神经调节蛋白 -1 的量来控制着髓鞘的厚度（Michailov et al. 2004）。

髓鞘对于正常的神经功能是必不可少的，并且能帮助轴突存活数十年。髓鞘的缺失（脱髓鞘）与惊厥、麻痹、某些衰弱疼痛（如多发性硬化）相关联（Emery 2010；Nave 2010）。有一些小鼠突变体呈现出一定程度的神经元髓鞘发育不良。在 *trembeler* 突变体小鼠中，施万细胞不能产生一个特定的蛋白质，导致周围神经系统的髓鞘形成缺陷而不影响中枢神经系统。相反地，在 *jimpy* 突变体小鼠中，中枢神经系统的髓鞘缺失而周围神经不受影响（Sidman et al. 1964；Henry and Sidman 1998）。

星形胶质细胞（**astroglial cell**）代表多样的胶质细胞，包括放射状胶质和各种星形胶质细胞的分化亚型，即 I 型、II 型、反应性星形胶质细胞（图 14.1D）。星形胶质细胞是因为它们在培养皿中呈星形而被这样命名。在过去，人们推测星形胶质细胞作为神经系统的结缔组织而发挥作用，也就是神经系统的“胶”。但是，现代的研究揭示，星形胶质细胞在成体神经系统中行使一系列至关重要的功能。这些功能包括建立血脑屏障、应答中枢神经系统的感染，以及（最重要的）支持突触稳态和神经传送。

星形胶质细胞的主要标记物是称为胶质细胞原纤维酸性蛋白（Gfap）的中间丝蛋白。人的 *gfap* 基因发生蛋白错误折叠的突变时会导致亚历山大病，这是一种由于纤维性蛋白聚集体阻碍多种神经系统功能而引起的神经退行性疾病（Brenner et al. 2001；Hagemann et al. 2006）。

小胶质细胞（**microglia**）通常被认为是中枢神经系统的“免疫细胞”，因为它们的功能是吞噬死亡或功能失调的神经元和神经胶质。顾名思义，小胶质细胞相对于神经系统的其他细胞类型较小。它们表现



拓展性问题

神经胶质，它们不仅仅是胶水吗？近来对神经胶质细胞功能的关注揭示这些细胞以众多的方式影响神经系统的生理过程，但是尚不清楚这些作用如何影响中枢神经系统的发育。考虑以下这些问题：是否少突胶质细胞的包裹对神经元存活是必需的？是否星形胶质细胞调节突触伙伴的靶向？是否小胶质细胞在发育过程中帮助“雕塑”脑？

图 14.2 神经传导和髓鞘形成。(A) 运动神经元。电脉冲（红色箭所示）被树突接收，受到刺激的神经元通过轴突将脉冲传递到靶组织。轴突（可达 2 ～ 3 ft 长；1 ft=30.48 cm）是一个细胞的延伸或突出，神经元通过它发出信号。轴突的生长锥既是一个运动器也是一个感受器，它活跃地探索环境，接收一些能告诉它要去哪里的方向性信息。最终，生长锥与轴突的靶组织建立一个连接或突触。(B，C) 在周围神经系统，施万细胞将自身包裹轴突上；在中枢神经系统，髓鞘形成由少突胶质细胞的突出来完成。图中显示一个施万细胞的髓鞘膜包裹一个轴突（照片由 C. S. Raine 提供）。

出很强活动性，具有巨噬细胞特征的行为。事实上，小胶质细胞不在神经系统中形成，它们最初是由来自卵黄囊的巨噬细胞的祖细胞产生的（Wieghofer et al. 2015）。这些循环的小胶质细胞的祖细胞在血脑屏障形成前进入中枢神经系统。

观察发育 14.1 这个入门视频有助于更多地了解神经胶质，它描述了不同的神经胶质细胞类型。

14.1.2 发育的中枢神经系统的各种组织

脑的神经元被组织成**层**（**lamina**）和簇，即**核团**（**nucleus**）[2]，它们具有不同的功能和连接。初始的神经管由**生发神经上皮**（**germinal neuroepithelium**）组成，这是一层细胞厚度的快速分裂神经干细胞。Sauer 及其同事（1935）显示，生发神经上皮的细胞跨越上皮的整个宽度，从神经管的腔表面一直到外表面。

[2] 在神经解剖学中，核团（nucleus）这个术语指的是解剖结构上脑神经元的一个离散群体，通常行使一个特定功能。它与细胞核是不同的结构。

在进化过程中，一些适应导致生发神经上皮在中枢神经系统中产生众多高度复杂的区域。但是，所有的这些区域都是相同的三区细胞层基本图式的细化：邻近管腔的室管膜区、套区或中间区、边缘区或外层（图 **14.3**）。

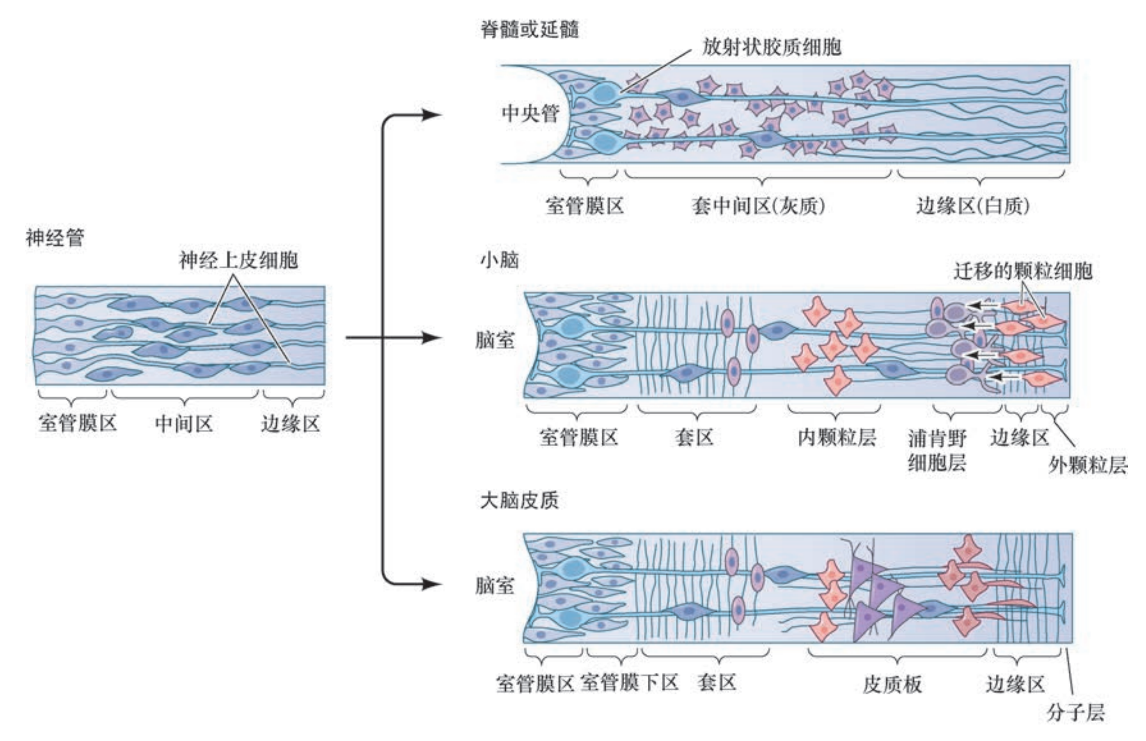


图 14.3　神经管壁的分化。一个 5 周的人胚胎神经管切面（左侧）显示三个区：室管膜区、中间（套）区、边缘区。在脊髓和延髓（右上），室管膜区是神经元和胶质细胞的唯一来源。在小脑（右中），第二个有丝分裂层，即外颗粒层，在距离室管膜区最远的区域形成。一类称为颗粒细胞的神经元从这一层迁移回到中间层，形成内颗粒层。在大脑皮质（右下），迁移的神经元和成胶质细胞形成一个含有 6 层的皮质板（参考 Jacobson 1991）。

随着**室管膜区**（**ventricular zone**）干细胞的继续分裂，迁移的细胞围绕初始的神经管形成第二层。当更多来自生发神经上皮的细胞添加进来时，这一层便逐渐变厚。这一新层是**套区**（**mantle zone**）或**中间区**（**intermediate zone**）。套区的细胞分化成神经元和神经胶质。神经元彼此连接并发出远离神经管腔的轴突，从而建立一个几乎没有细胞体的**边缘区**（**marginal zone**）。最终，少突胶质细胞以髓鞘的形式覆盖边缘区的许多轴突，赋予这些轴突一个白色的外观。因此，富含轴突的边缘区通被常被称为**白质**（**white matter**），而套区因为含有神经元细胞体（见图 14.3）被称为**灰质**（**gray matter**）。室管膜区的生发上皮将在后来萎缩变成内衬脑室的**室管膜**（**ependyma**）。

在这里，我们对中枢神经系统结构的探索将集中在脊髓和延髓、小脑和大脑的构造。

脊髓和延髓的组织化　室管膜区、套区和边缘层这种基本三区图式维持在脊髓和延髓（后脑的后部区域）的整个发育过程中。在横切面上观察时，套区逐渐发育成蝴蝶形的结构，被边缘区或白质所包围，两者又被结缔组织所包绕。随着神经管的成熟，一个纵沟，即**界沟**（**sulcus limitans**），将其分成背、腹两个部分。背侧部分接收来自感觉神经元的输入，而腹侧部分参与影响各种运动功能（图 **14.4**）。这种发育解剖结构产生了延髓和脊髓生理学的基础（如反射弧）。

小脑的组织化　在小脑，细胞迁移，以及选择性增殖和死亡使图 14.3 所示的三区图式产生变化。小脑的发育形成一个高度折叠的皮质（外区），由浦肯野神经元和颗粒神经元被整合成一些“核团”所组成，这些核团控制平衡功能并将来自小脑皮质的信息中转到其他脑区域。在小脑的发育中，一个关键事件好像是神经祖细胞迁移到小脑的外层，在这里，它们在邻近神经管的外边界形成一个新的生发区，即**外颗**

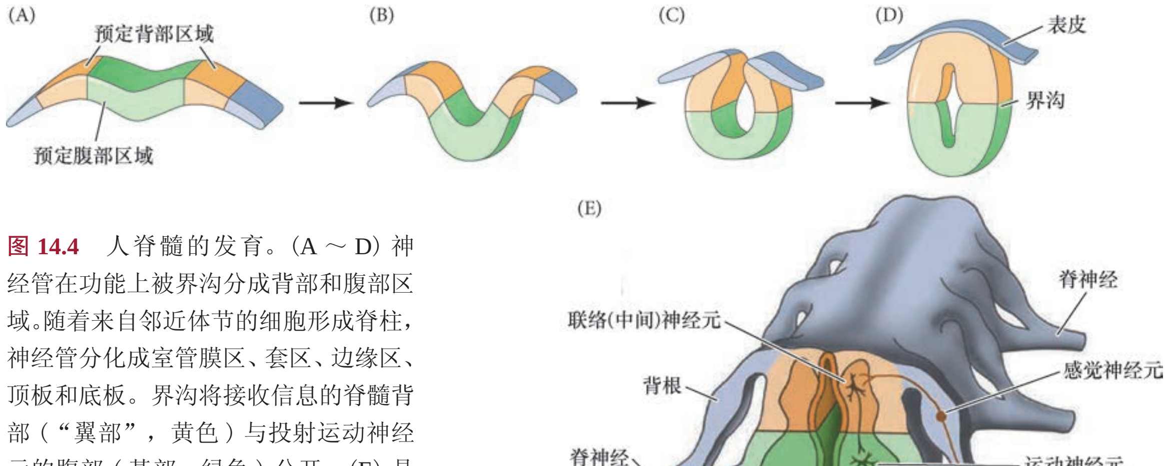


图 14.4 人脊髓的发育。(A～D) 神经管在功能上被界沟分成背部和腹部区域。随着来自邻近体节的细胞形成脊柱，神经管分化成室管膜区、套区、边缘区、顶板和底板。界沟将接收信息的脊髓背部（“翼部”，黄色）与投射运动神经元的腹部（基部，绿色）分开。(E) 具有感觉（背）根和运动（腹）根的一段脊髓（参考 Larsen 1993）。

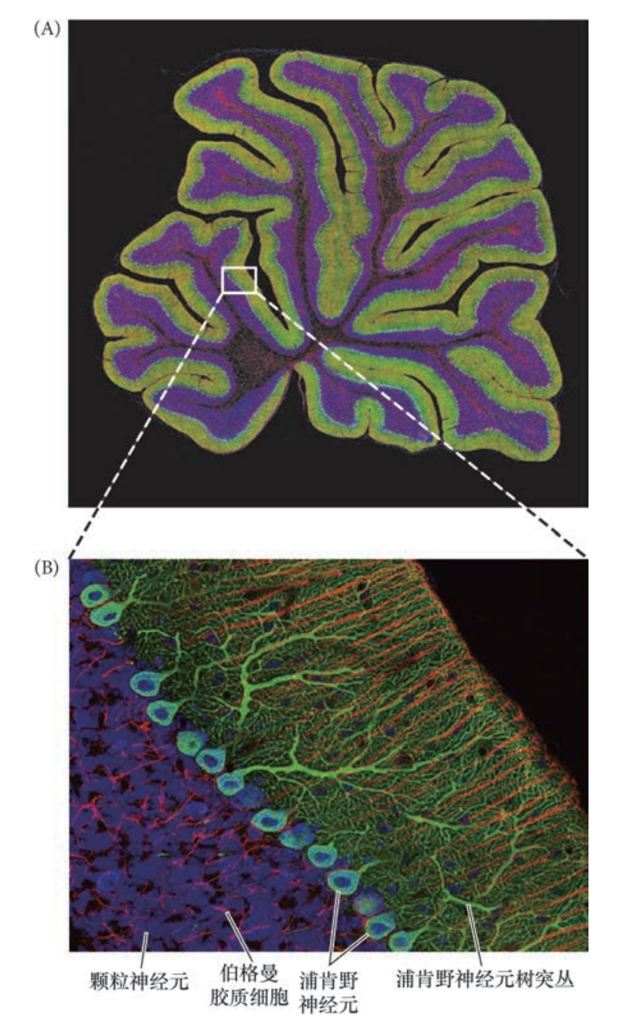


图 14.5 小脑的组织化。(A) 双光子共聚焦显微镜成像显示荧光标记的大鼠小脑的矢状切面。(B) 图 A 中方框区域的放大图，显示高度结构化组织的神经元和胶质细胞。浦肯野神经元呈浅蓝色，具有亮绿色的突出；伯格曼胶质细胞呈红色；颗粒细胞呈深蓝色（由加州大学圣地亚哥分校 T. Deerinck 和 M. Ellisman 提供）。

粒层（**external granular layer**）。

在外颗粒层（1～2 个细胞体的厚度）的外边界，神经祖细胞增殖并与分泌骨形态发生蛋白（BMP）的细胞相接触。骨形态发生蛋白将来自神经祖细胞分裂产生的有丝分裂后细胞特化为一种称为**颗粒细胞**（**granule cell**）的神经元（Alder et al. 1999）。颗粒细胞往回迁移到室管膜区，在这里它们形成一个区域（见图 14.3），称为**内颗粒层**（**internal granular layer**）。同时，小脑的初始室管膜区产生各种神经元和胶质细胞，包括独特和很大的**浦肯野神经元**（**Purkinje neuron**），这是小脑的主要细胞类型（图 14.5）。浦肯野神经元分泌 Sonic hedgehog，使外颗粒层中的颗粒细胞前体维持分裂（Wallace 1999）。每个浦肯野神经元都有一个巨大的**树突丛**（**dendritic arbor**），像一个球茎状胞体上铺展的一棵树（见图 14.1B）。一个典型的浦肯野神经元可以和其他神经元形成多达 10 万个突触，多于任何被研究过的神经元类型所形成的连接。每个浦肯野神经元也发出纤细的轴突，与深层小脑核团的神经元相连接。

浦肯野神经元对于小脑的电通路至关重要。所有的电脉冲最终都是用来调节它们的活动，因为浦肯野神经元是小脑皮质中唯一的传出神经元。这种调节需要正确的细胞在正确的时间和空间进行分化。这一系列复杂的事件是如何完成的？考虑一下哪些机制可能控制神经元分化的图式，因为在本章的后面我们将回到这个重要的问题。

大脑的组织化 神经管的三区排列也见于大脑，尽管这种排列发生了一些变化。大脑以两个不同的方式而组织形成。首先，像小脑一样，大脑径向组织成一些相

互作用的细胞层。来自套区的一些神经祖细胞在放射状胶质细胞的突出上向脑外表面迁移，聚集成一个新层，即皮质板（见图 14.3）。这一新的灰质层将形成**新皮质**（**neocortex**），是哺乳动物脑的显著特征。新皮质的特化与 Lhx2 转录因子有关，这个转录因子激活众多其他的大脑基因。缺失 *Lhx2* 基因的小鼠不能形成大脑皮质（图 14.6；Mangle et al. 2008；Chou et al. 2009）。

新皮质最终分成 6 层神经元细胞体；这些层的成体形式直到童年中期以后才成熟。新皮质的每一层在功能特性、神经元类型，以及它们形成的一些连接上都有别于其他层（图 14.7）。例如，第 4 皮质层的神经元从丘脑（由间脑形成的一个区域）接收它们的主要输入，而第 6 层的神经元向丘脑发出它们的主要输出。

除了垂直的 6 层以外，大脑皮质还在水平方向上组织成 40 多个区域，调节解剖和功能上显著不同的过程。例如，位于第 6 层的视皮层神经元将轴突投射到参与视觉的丘脑外侧膝状体核，而第 6 层的听皮层神经元（在视皮层的前部）将轴图投射到参与听觉的丘脑内侧膝状体核。

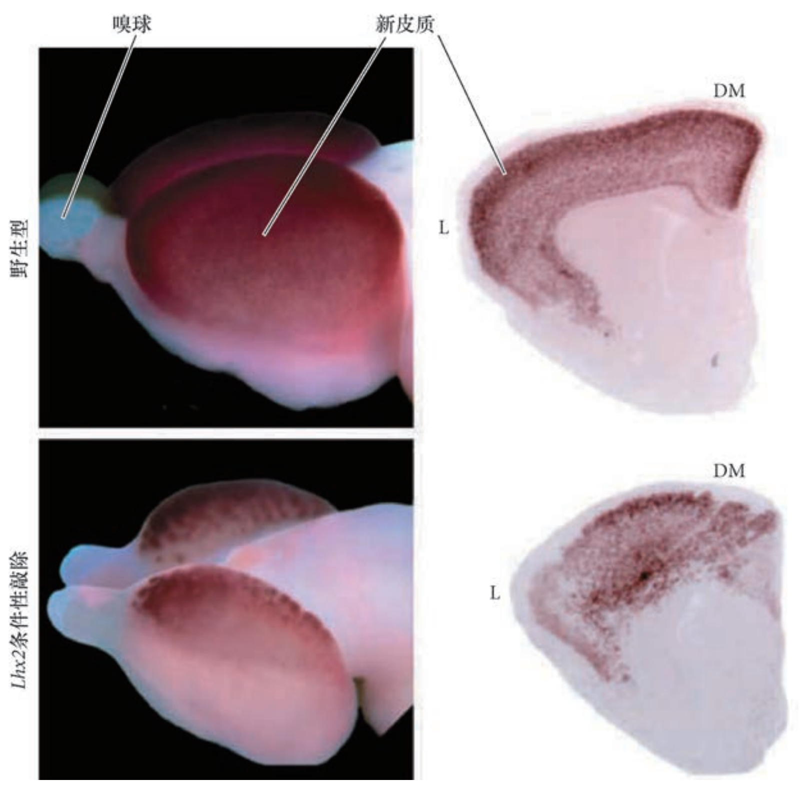


图 14.6　*Lhx2* 对新皮质的发育是必需的。野生型和条件性敲除 *Lhx2* 的小鼠脑的整体和冠状切面图。基因敲除小鼠的早期干细胞缺失 *Lhx2*。新皮质标记物 *Satb2*（褐色）在野生型小鼠新皮质的背内侧（DM）和外侧（L）高度表达；而在敲除 *Lhx2* 基因的小鼠中，只有新皮质的背内侧呈现显著的 *Satb2* 表达水平（来自 Chou et al. 2009）。

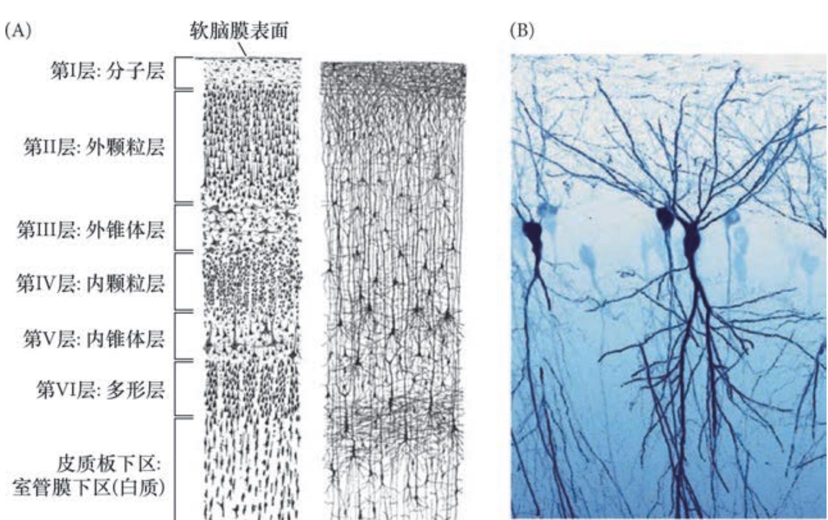


图 14.7　不同的神经元类型组成新皮质的 6 层结构。（A）不同的细胞染色显示新皮质的分层，这是圣地亚哥·拉蒙·卡哈尔于 1899 年发表在《人的皮质感觉区的比较研究》中的精致绘图。（B）小鼠海马的锥体神经元（出生后第 7 天）（B 图由 Joanna Szczurkowska 拍摄，获得 2014 年奥林巴斯生物数码成像大赛佳作奖）。

发育神经生物学的主要问题之一是大脑皮质的不同功能区是否在室管膜区已经被特化，或者这种特化是否通过不同区域之间的突触连接在很后期才完成。特化发生在早期（并且有可能存在大脑皮质的一些“样图”）的证据来自某些人类基因的突变，这些突变只破坏了皮质某一部分的分层和功能，但使其他区域保持完整（Piao et al. 2004）。最近发现了胚胎皮质样图存在的直接证据，Fuentealba 及其同事（2015）利用逆转录病毒条形码技术跟踪了小鼠胚胎脑不同区域的室管膜放射状胶质细胞，直到细胞的直接克隆后代能够在成体皮质中被鉴别出来（图 14.8）。他们发现皮质的分化神经元来自驻留在胚胎同类区域的干细胞（而这些干细胞又是来自类似室管膜区域的放射状胶质细胞）。这些结果支持了一个模型，也就是室管膜区的放射状胶质细胞在胚胎中被区域性特化，并产生类似特化的成体干细胞。这些干细胞传播区域性限制的后代。

发育辅导课 **大脑皮质的神经元发生** Michael J. F. Barresi 博士描述控制大脑皮质由内向外发育的细胞和分子过程。

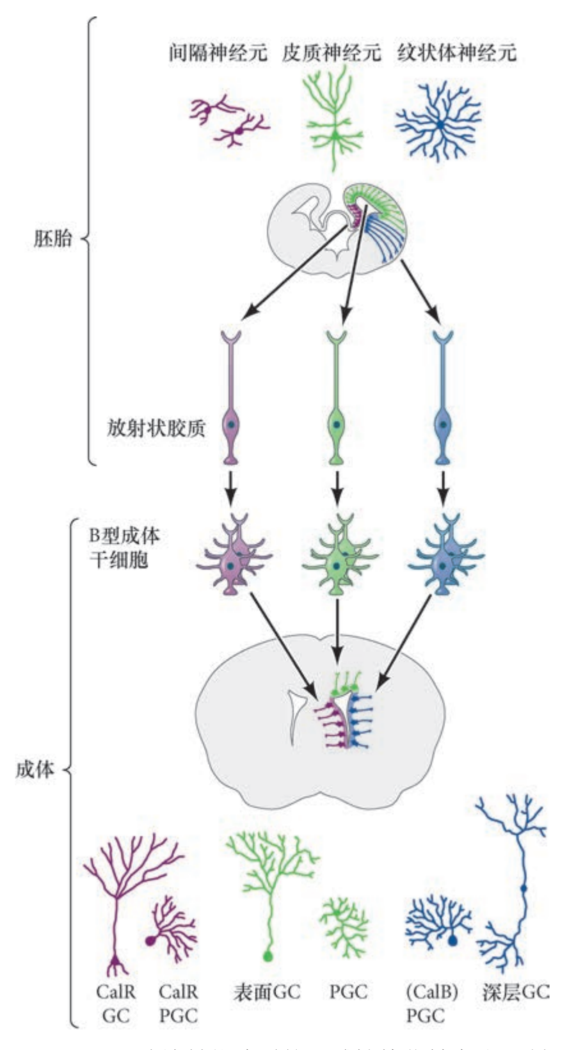


图 14.8 胚胎放射状胶质的区域性特化转变成限制性的祖细胞来源。这个示意图显示室管膜放射状胶质细胞在胚胎脑中的位置（上图）、B 型干细胞的克隆来源，以及它们在成体脑中的分化神经元（下图）。GC，颗粒细胞；PGC，球旁细胞；CalB，钙结合蛋白；CalR，钙视网膜蛋白（参考 Fuentealba et al. 2015）。

14.2 调节脑生长的发育机制

使哺乳动物的脑生长很像建造一个多层和多色的砖砌建筑物。首先，要把这些砖做出来，并将正确颜色的砖以恰当的数目放到合适的位置。其次，在整个结构中，脚手架被用来将砖和其他材料运输到它们的预定位置。建筑物被从下向上建造，在各维度上向外搭建以创作逐渐复杂的构造。在发育的脑中，对干细胞和祖细胞分裂的精确控制产生了必需的细胞数目和类型（“砖”）。放射状胶质细胞不仅作为干细胞，而且为祖细胞和新生神经元逐渐运动到更表层提供必要的脚手架，这样就会有效地从内向外建造脑。

14.2.1 分裂过程中神经干细胞的行为

分裂过程中的周期性核迁移 在 1935 年，Sauer 及其同事对生发神经上皮的研究不仅发现细胞跨越上皮的宽度，也显示细胞核位于这个组织的不同高度（见图 14.1A），而且这些核随着细胞经历细胞周期而运动。在 DNA 合成过程中（细胞周期的 S 期），邻近神经管外缘的细胞中的核位于基端，随着细胞周期的进行，细胞核向顶端位移。到有丝分裂时（M 期），细胞核位于细胞的顶端，靠近室管膜表面。有丝分裂后（G_1 期），细胞核重新缓慢移动到基端（图 14.9）。这一过程称为**周期性核迁移**（**interkinetic nuclear migration**），也见于放射状胶质细胞，并且在脊椎动物中广泛存在（Alexandre et al. 2010；Meyer et al. 2011；Spear and Erickson 2012）。其中的机制还不完全清楚，但可能与微管和马达蛋白相关。在斑马鱼中，对有丝分裂纺锤体分离非常重要的一个马达蛋白的基因发生突变时，放射状胶质细胞能起始周期性核迁移，但是不

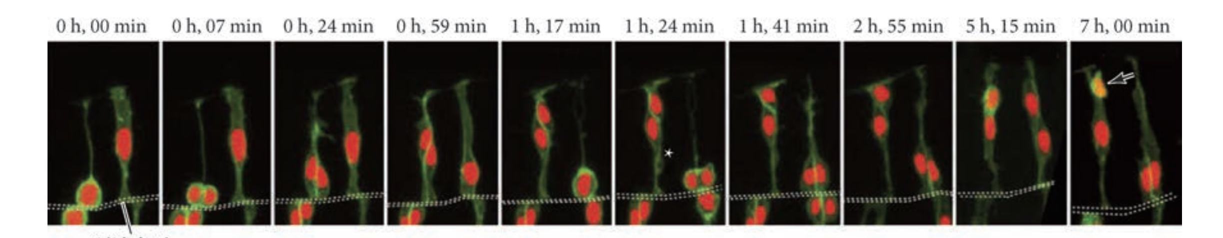


图 14.9　斑马鱼胚胎后脑中神经上皮细胞周期性核迁移和神经干细胞分裂的活体成像。对生发上皮的两个几乎相邻的祖细胞进行 7 h 的拍摄。细胞被标记以显示细胞膜（绿色）和细胞核（红色）。一个报道基因特异性地标记神经元（黄色）。位于左侧的祖细胞经历了一次不对称分裂，产生一个神经元（7 h 的箭所示）和另外一个祖细胞（在神经元下方）。位于右侧的细胞经历了对称分裂，产生两个祖细胞。在 1 h 24 min 的星号显示神经元子细胞从顶端表面（白色双虚线）脱离的位点。一个祖细胞中的核随着细胞周期的进行而发生位移。当核向细胞的基端位移时（远离双虚线），细胞进行 DNA 合成（S 期）；当核靠近细胞的顶端时，细胞处在有丝分裂期（M 期）（来自 Alexandre et al. 2010）。

能完成有丝分裂过程，随着时间的推移，这些放射状胶质的胞体聚集在管腔（顶端）表面（Johnson et al. 2016）。

观察发育 14.2　*在斑马鱼和鸡的脑中观察分裂过程中放射状胶质细胞的周期性核迁移的细胞行为。*

分裂的对称性　神经上皮细胞或者放射状胶质细胞在分裂时，它们有哪些选择？回顾第 5 章我们对其他干细胞分裂的描述（见图 5.1）。一个干细胞能进行对称分裂以产生自身的两个副本，增加干细胞储备。或者，对称分裂能产生两个分化的子细胞，因此消耗干细胞储备。一个干细胞也可以通过不对称分裂进行自我更新和产生一个分化的子细胞。你如何研究神经上皮中发生哪种分裂方式？用示踪物标记细胞（如放射性胸苷只整合到分裂中的细胞）能使你追踪细胞谱系。如果在早期发育过程中以这种方式标记哺乳动物的神经上皮细胞，所有的细胞都会将放射性胸苷整合到 DNA，表明它们都在进行某种方式的分裂（Fujita 1964）。但是，稍后不久，有些细胞就停止整合这种胸苷类似物，表明它们不再分裂。这些细胞迁移离开神经管腔，分化成神经元和胶质细胞（Fujita 1966；Jacobson 1968）。如果生发神经上皮的一个细胞准备产生神经元（而不是更多的神经干细胞），分裂面通常会出现位移以产生不对称分裂（图 14.9 中的箭所示）。其中一个细胞会脱离管腔表面（图 14.9 中的星号），而不是两个细胞都保持附着在那里。与管腔表面保持连接的那个细胞通常依然是干细胞；而另外一个细胞进行迁移，分化成一个神经元或者其他类型的祖细胞（Chenn and McConnell 1995；Hollyday 2001）。

拓展性问题

据说一幅图值 1000 个字，那么一个视频就值 100 万个字。观看周期性核迁移的录像（见观察发育 14.2），我们建议你避免每次都去看新事物。在这些视频中隐藏了许多问题的答案，包括：为什么胞质分裂需要发生在神经上皮的顶端表面？这些细胞是否保留它们在基端的突出？中心体作为微管和有丝分裂的关键组织结构，在核迁移中的作用是什么？

14.2.2　神经发生：自下而上（或从内向外）的构建

Nicholas Gaiano 在 2008 年发表的一篇文章中曾这样总结神经发生：

哺乳动物新皮质的构建也许是自然界中最复杂的生物过程。一群看上去是均质的干细胞首先经历增殖性扩增和多样化，然后起始一波又一波神经元的产生。随着这些神经元的产生，它们进入初生的皮质板，整合到发育中的新皮质回路。神经元形成、迁移和分化的时空协调受到严密调节，并且对于建立一个能够处理和应答外界感觉输入，以及能够产生意识思维的成熟脑来说是至关重要的。

随着神经管的成熟，神经上皮干细胞的后代变成放射状胶质细胞。直到最近，细胞谱系研究才证明放射状胶质细胞是进行对称和不对称分裂的神经干细胞（Malatesta et al. 2000，2003；Miyata et al. 2001；Noctor et al. 2001；Anthony et al. 2004；Casper and McCarthy 2006；Johnson et al. 2016）。放射状胶质细胞的分裂发生在**室管膜区**（**ventricular zone**），这个区域是脑室的内衬，因此与脑脊液接触。在大脑，随着祖细胞从室管膜区的分层，它们在室管膜区的基部形成一个**室管膜下区**（**subventricular zone**）。这两层共同形成生发层，这个生发层产生的神经元迁移到皮质板并形成新皮质的神经元层（**图 14.10A，B**；Frantz et al.1994；综述文献 Kriegstein and Alvarez-Buylla 2009；Lui et al. 2011；Kwan et al. 2012；Paridaen and Huttner 2014）。

室管膜层的单个干细胞能产生任何皮质层的神经元和胶质细胞（Walsh and Cepko 1988）。生发层有三种主要的祖细胞：**室管膜放射状胶质细胞**（**ventricular radial glia，vRG**）、**外层放射状胶质细胞**（**outer radial glia，oRG**）和**中间祖细胞**（**intermediate progenitor，IP**）。在中枢神经系统发育的早期，神经上皮细胞转变为室管膜区放射状胶质细胞，顾名思义，它们与管腔表面保持接触。室管膜区放射状胶质细胞作为亲代干细胞，除了直接产生神经元，还将产生外层放射状胶质细胞和中间祖细胞（**图 14.10C，D**）。自我更新和对称分裂以扩增祖细胞储备在神经发生的早期占主导地位，然后，更多的不对称分裂主导祖细胞的分化。

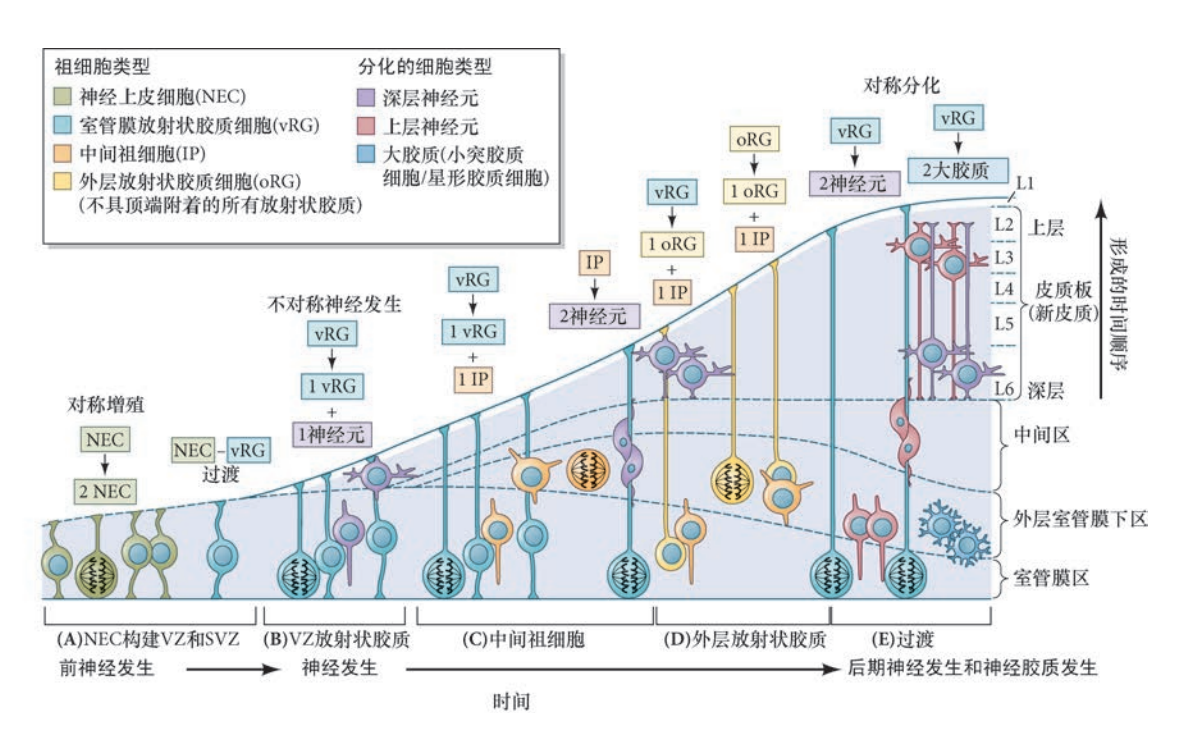


图 14.10 大脑皮质神经发生的概括性模型。SVZ：室管膜下区；VZ：室管膜区（根据 Kriegstein and Alvarez-Buylla 2009；Kwan et al. 2012；Paridaen and Huttner 2014）。

外层放射状胶质细胞的基端突出总是与软脑膜表面保持接触；但是，它们不再接触顶端表面，并且它们的胞体驻留在室管膜下区，所以相对于室管膜区放射状胶质细胞是处在“外部”（Lui et al. 2011；Wang et al. 2011）。室管膜区放射状胶质细胞和外层放射状胶质细胞都能分裂产生中间祖细胞（见图 14.10C，D）。中间祖细胞只有局限的分裂能力，通常只能进行一轮分裂，但它们能作为一个祖细胞群体特异性地扩增特定的细胞谱系，在神经发生过程中具有关键作用。一般认为，细胞类型的潜能（即一个祖细胞能产生的细胞类型）从室管膜区放射状胶质细胞到外层放射状胶质细胞变得更加局限，中间祖细胞显示最大的谱系限制性（Noctor et al. 2004；Lui et al. 2011）。

 **科学家讲座 14.1**　Arnold Kriegstein 博士关于外层放射状胶质细胞和新皮质发育的网络会议。

14.2.3　神经胶质作为小脑和新皮质分层的脚手架

不同类型的神经元和胶质细胞在不同时间产生。在大脑发育的不同时间标记细胞后显示，最早产生的细胞迁移的距离最短；后来产生的那些细胞迁移得很远，形成脑皮质的更表面区域。随后的分化取决于神经元离开生发神经上皮后所处的位置（Letourneau 1977；Jacobson 1991）。是什么发育机制调控神经元产生与脑顶 - 基轴方向分化的耦合？

几十年来，人们已经知道放射状胶质细胞在整个中枢神经系统引导神经祖细胞从内部（管腔）区域迁移到外部区域（Rakic 1971）。因此，作为放射状胶质后代的那些祖细胞也利用其“姐妹”干细胞在管腔和外表面之间的连接迁移到正确的位置。我们将探索放射状胶质在小脑和大脑中引导迁移的机制。

小脑的伯格曼胶质细胞　使年轻神经元定位在发育的哺乳动物脑中的一个重要机制被认为是**神经胶质导向**（**glial guidance**）。在整个皮质，神经元沿着“神经胶质单轨”到达各自的终点（Rakic 1972；Hatten 1990）。在小脑，颗粒细胞前体沿**伯格曼胶质细胞**（**Bergmann glia**）的长突出迁移。伯格曼神经胶质细胞是一种放射状胶质细胞，它们在整个生发神经上皮延伸出一到两个细长的突出（见图 14.5B；Rakic and Sidman 1973；Rakic 1975）。如图 14.11 所示，这种神经元 - 胶质细胞相互作用是一系列复杂和迷人的事件，涉及神经胶质和新生神经元之间的相互识别（Hatten 1990；Komuro and Rakic 1992）。

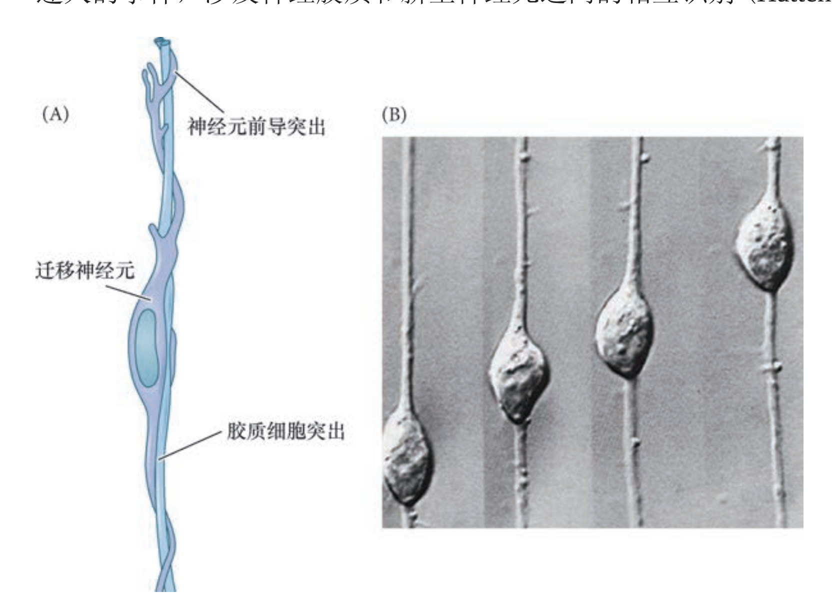
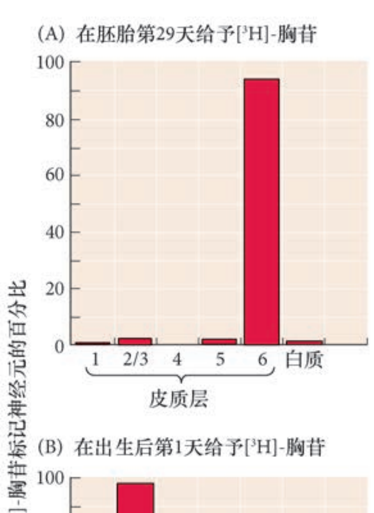


图 14.11　小鼠中神经元与胶质细胞的相互作用。(A) 一个皮质神经元在一个胶质细胞突出上迁移的示意图。(B) 一个神经元在小脑胶质细胞突出上迁移的连续照片。前导突出有多个丝足延伸。神经元在迁移时的运动速度可达到每小时 40 mm（A 图参考 Rakic 1975；B 图来自 Hatten 1990，照片由 M. Hatten 提供）。

新生神经元的迁移似乎涉及那些连接神经元和生发层细胞的黏附分子的丢失，以及一组将新生神经元连接到神经胶质的黏附分子的获得（Famulski et al. 2010）。对一系列小鼠突变体的研究发现了参与这种黏附的一些分子，这些突变体不能保持自身的平衡，因而被命名为 *reeler*（摇晃的步态）、*staggerer*（摇摆不定）、*weaver*（迂回行进），反映出它们的运动问题（Falconer 1951）。在 *reeler* 突变体的脑中，胶质细胞缺失了能使神经元与其结合的细胞外基质蛋白 Reelin。另外一个黏附蛋白——astrotactin，对颗粒细胞神经元维持它们与胶质细胞突出的黏附是必需的。如果神经元上的 astrotactin 被其抗体封闭，神经元将不能与胶质细胞的突出附着（Edmondson et al. 1988；Fishell and Hatten 1991）。神经元迁移的方向似乎受控于**脑源性神经营养因子**（**brain-derived neurotrophic factor，BDNF**）协调的一系列复杂事件，它是内颗粒层产生的一种旁分泌因子（Zhou et al. 2007）。

新皮质的放射状胶质细胞　在发育的大脑中，室管膜区产生的大部分神经元沿放射状胶质细胞的

突出向外迁移，在脑的外表面附近形成**皮质板**（**cortical plate**），在那里它们构成新皮质的6层结构。像在脑的其他部分一样，那些最早产生的神经元在离脑室最近的位置形成一层（图14.12A，B）。随后的神经元迁移到更远的距离形成皮质的更表面层。这个过程形成了一个“由内向外”的发育梯度（Rakic 1974）。McConnell和Kaznowski（1991）证明，最后一次细胞分裂决定分层的特征（即一个细胞迁移到哪一层）。如果将年轻脑中最后一次分裂产生的新神经元（它们在年轻脑中形成第6层）移植到晚期脑中（其中的迁移神经元正在形成第2层），这些移植的神经元将维持它们的定型命运，只迁移到第6层。但是，如果在最后一次分裂前（在S期的中期）移植这些细胞，它们的命运没有定型，因此将迁移到第2层（图14.12C，D）。晚期脑神经元前体的命运已经基本定型。在发育早期形成的神经元前体具有变成任何神经元的潜能（如第2或第6层）；后期的前体细胞只能形成上层（第2层）神经元（Frantz and McConnell 1996）。一旦细胞到达其最终位置，一般认为它们将表达特定的黏附分子，将自身组织成脑核团（Matsunami and Takeichi 1995）。



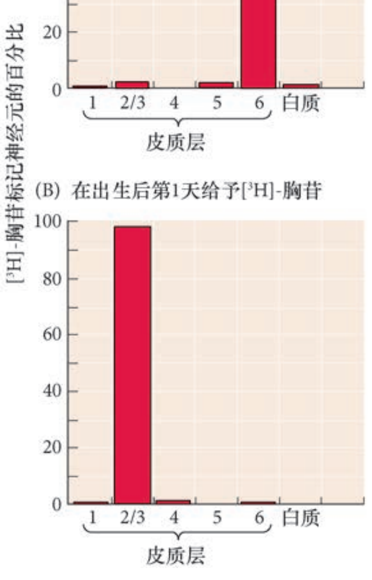
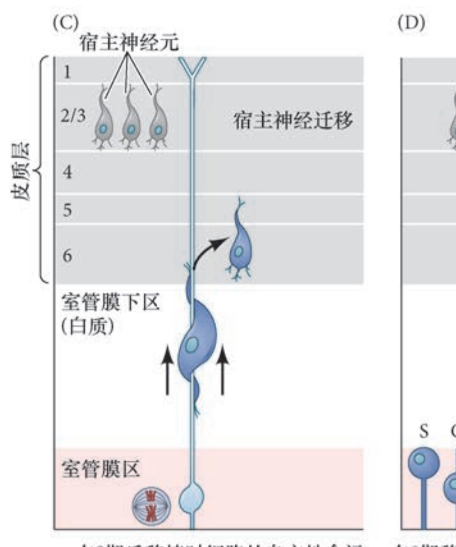
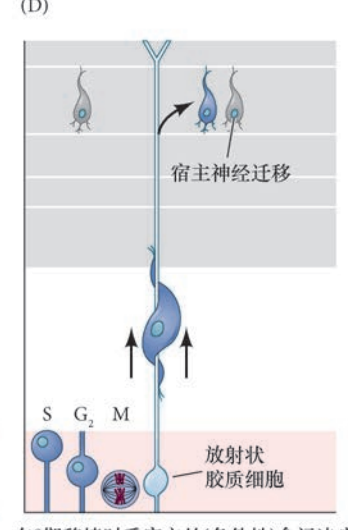


图14.12 雪貂大脑皮质分层特征的决定。（A）“早期”的前神经元前体（在胚胎的第29天产生）迁移到第6层。（B）“晚期”的神经元前体（在出生后第一天产生）迁移到更远的第2和第3层。（C）早期的神经元前体（深蓝色）在最后一次分裂的S期之后被移植到晚期的室管膜区时，它们形成的神经元迁移到第6层。（D）如果这些前体在最后一次S期之前或最后一次S期的过程中被移植，它们与宿主的神经元共同迁移到第2层（参考McConnell and Kaznowski 1991）。





14.2.4 调控新皮质发育的信号机制

CAJAL-RETZIUS细胞：新皮质中的“移动靶标” 迁移中的神经祖细胞如何被分隔到正确的细胞层？如前所述，早期产生的神经元建立深层，而晚期产生的神经元形成更表层。考虑一下这个问题。这意味着大脑是从内向外生长。这种生长的一个结果就是随着每一层的不断扩张，外部软脑膜表面就会距离室管膜表面越远。因此，软脑膜表面是一个不断扩张的外缘，神经元在开始向外长途跋涉时必须比它们的前任迁移得更远。这一重要的动态最终影响脑的分层（见Frotscher 2010）。

当管腔与软脑膜表面在新皮质的早期发育过程中还比较接近时，一个新生的神经元向软脑膜面伸出基端丝足，建立黏附接触，然后简单地将细胞核及其缔合的细胞质向软脑膜表面位移，这使细胞体从细胞的顶端区域易位到基端区域。基端附着能够提供易位所需的物理抗性和张力（Miyata and Ogawa 2007）。因此，这个过程不需要实际性的细胞迁移。但是，在后期发育过程中，每个祖细胞需要沿放射状胶质细

胞的基端突出活跃迁移，直到它自身的基端细胞膜接触皮质板的最外区域，这时，一个类似的易位就能完成这个旅程（图 14.13A）。

影响祖细胞向外迁移的细胞是 **Cajal-Retzius 细胞**（**Cajal-Retzius cell**），这些细胞位于软脑膜表面的下部，分泌细胞外蛋白 Reelin，我们在前面提到这一蛋白质调节小脑的分层（D'Arcangelo et al. 1995，1997）。易位中的祖细胞表达 Reelin 蛋白的跨膜受体（Trommsdorff et al. 1999），当受体与 Reelin 结合时引发一系列由 Disabled-1 酶介导的信号转导途径（见图 14.13A，细胞 1）。其结果是细胞表达更多的神经钙黏素，使它们与同样表达神经钙黏素的细胞相附着。钙黏着蛋白的表达从室管膜区开始逐渐增强，在边缘区达到最高水平，并与 Cajal-Retzius 细胞重叠；因此，表达神经钙黏素的新生神经元变得朝向黏附逐渐增高的区域（Franco et al. 2011；Jossin and Cooper 2011）。神经元也向软脑膜表面富有纤连蛋白的细胞外基质延伸丝足（Chai et al. 2009），并且利用称为整联蛋白的跨膜蛋白（纤连蛋白的受体）将丝足附着在这

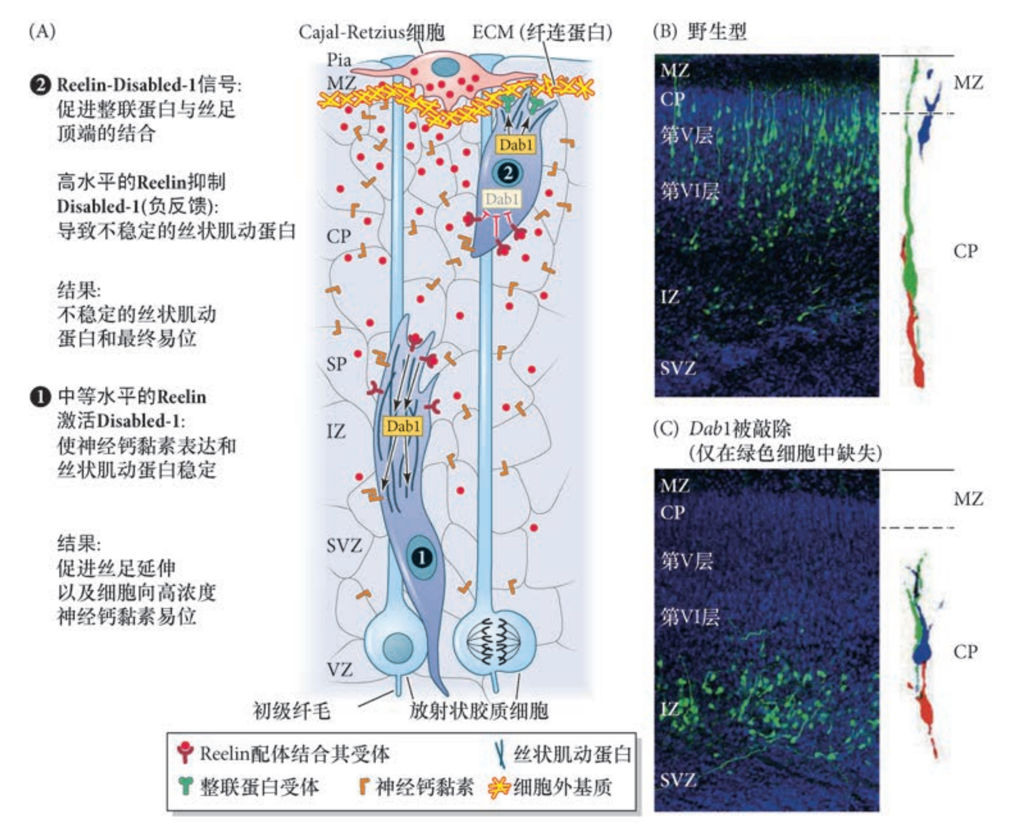


图 14.13　Reelin 蛋白调节神经元定向迁移的模型。(A) 从 Cajal-Retzius 细胞分泌后，Reelin 蛋白（红色圆点）以梯度的方式分布在细胞外基质（ECM）。Reelin 指令新生的迁移神经元（标记①和②）从基端细胞膜向软脑膜表面（pia）延伸丝足。*Disabled-1*（*Dab1*）被 Reelin 蛋白激活。*Dab1* 基因的产物稳定丝状肌动蛋白，并上调神经钙黏素的表达。神经钙黏素在整个上皮也定位在放射状胶质纤维和其他细胞的细胞膜上，在最接近边缘区（MZ）的浓度最高。初始的 Reelin-Dab1 信号导致丝足向边缘区定向延伸及神经元 1 的易位。在一个向边缘区迁移的神经元中（细胞 2），Dab1 上调整联蛋白在丝足顶端的表达，使这个细胞锚定在富含纤连蛋白的细胞外基质上。但是，在 Reelin 达到最高浓度时，一个负反馈机制被启动，通过蛋白降解而抑制 Dab1（细胞 2），终止细胞迁移并在特定的皮质层促使细胞分化。(B，C) 在新生神经元和迁移的祖细胞中对 *Dab1* 进行的条件性失活。实验中使用了两种类型的小鼠，即野生型和携带 *Dab1* 条件性突变的品系，这个突变只有与第二个基因（Cre 重组酶的基因）组合后才被触发。*Cre* 对野生型小鼠没有影响。携带 *Cre* 和 *GFP* 的质粒被导入这两种品系的小鼠的祖细胞。接收质粒的细胞可以通过 GFP 的表达（绿色）被识别。(B) 野生型对照小鼠显示处理后的祖细胞成功地到达皮质板（CP）层。(C) 在携带 *Dab1* 条件性突变的小鼠中，*Dab1* 在绿色的细胞中（含有 *Cre*，表达 GFP）被敲除。这些细胞滞留在中间区（IZ）。对一个细胞进行延时成像显示，一个典型的祖细胞将起始迁移性细胞延伸（红色），然后向边缘区（绿色）伸出基端突出，最后将顶端部分易位到外层（蓝色；见 B 图右侧的绘图）。类似的成像显示 *Dab1* 基因被敲除的细胞起始迁移，但是它们不能延伸有效的基端突出，也没有显示任何易位（C 图右侧的绘图）。SP：皮质板下区；SVZ：室管膜下区；VZ：室管膜区（B 图和 C 图来自 Franco et al. 2011）。

个细胞外基质上（Sekine et al. 2012）。一旦丝足与细胞外基质附着，Disabled-1 酶介导的肌动蛋白细胞骨架调节便促使丝足以弹簧样的运动进行收缩，随着细胞顶端的脱离将细胞胞体拉向前部（见图 14.13A，细胞 2；Miyata and Ogawa 2007）。

起始这个迁移的相同Reelin蛋白信号也触发一个负反馈，以至于在Reelin的最高浓度处（靠近边缘区），神经元失去它们的细胞黏附分子，以一个逐步由内向外的方式整合到皮质板的细胞层（见图 14.13A，细胞 2；Feng et al. 2007）。缺失 *Reelin*、其受体或者 *Disabled-1* 将导致皮质分层的反转；这些基因缺失时，通常位于内层（第 4 和第 5 层）的神经元将会定位在边缘区附近（第 1 层），而外层细胞（第 2 和第 3 层）则定位在皮质板下区附近（**图 14.13B，C**；Olson et al. 2006；Franco et al. 2011；Sekine et al. 2011）。

观察发育 14.3 观察晚期迁移的成神经细胞易位到 Cajal-Retzius 细胞时的形态。

网络话题 14.1 **神经元相对于胶质细胞的分化** 探索神经营养因子对调控皮质祖细胞分化成神经元或胶质细胞的作用。

网络话题 14.2 **大脑的水平和垂直特化** 大脑皮质的水平或垂直的组织化都不是克隆性特化的。细胞迁移非常关键，而且邻近细胞分泌的一些旁分泌因子在迁移和分化中起主要作用。

拓展性问题

神经钙黏素对新皮质的神经祖细胞迁移非常重要，但为什么重要？细胞沿顶-基轴呈现逐渐增高的钙黏着蛋白表达水平，这似乎为迁移到下一层提供一条道路，但是钙黏着蛋白通常被认为在差异性黏附和细胞分选中起作用。细胞分选的特性是否很像上皮钙黏素在斑马鱼原肠胚中的功能（见第 4 章），也能驱动神经祖细胞向边缘区运动？在一个有趣的研究中，对小鼠和人的新皮质的不同增殖区进行转录组分析发现，细胞黏附分子和细胞外基质的基因都高度表达（Fietz et al.2012），暗示细胞黏附可能是皮质分层的一个复杂和基本机制。

拓展性问题

已经证明 Hes 家族的 Notch 转录效应物通过一个负反馈机制在室管膜放射状胶质细胞中呈现震荡周期的基因表达（见第 4 章和第 17 章；Shimojo et al. 2008）。我们可以推测一个有趣的模型，其中一个室管膜放射状胶质细胞经历的 Notch-Hes 震荡次数可能调节它在更新、祖细胞产生、分化之间的发育（Paridaen and Huttner 2014）。

变成或不变成…一个干细胞、一个祖细胞或一个神经元？ 一个放射状胶质细胞是否进行对称或不对称分裂取决于它的分裂面（分裂面受有丝分裂纺锤体的方向决定），并与将要产生的后代类型相关。完全垂直于（平面）管腔表面（也即有丝分裂纺锤体平行于管腔）的胞质分裂能产生两个放射状胶质细胞（Xie et al. 2013）。尽管这种垂直分裂有时能产生不同的后代，即一个放射状胶质细胞和一个神经元，但通常是斜角分裂面产生这两种后代。如果改变有丝分裂纺锤体而使胞质分裂沿随机轴发生，这将增加早期不对称分裂，并引起过早的神经发生（Xie et al. 2013）。

胞质分裂后，一个子细胞的命运与其继承的中心体有关。在一个分裂细胞中，两个中心体的年龄并不相同：亲代的中心体比它复制产生的子代中心体要“老”。在每次分裂中，接收“老”中心体的细胞将作为一个干细胞保留在室管膜区，而接收“年轻”中心体的细胞将离开这个位置进行分化（Wang et al. 2009）。这两个中心体结合不同的蛋白质和结构，使那些能够影响基因表达和细胞命运的因子呈现不对称分布。其中特别重要的是初级纤毛，它与老的中心体相连接，而且在分裂时一直维持在一起。继承这个老的中心体和初级纤毛的子细胞能将初级纤毛迅速伸入管腔，与脑脊液接触。脑脊液中含有一些因子，如胰岛素样生长因子、成纤维细胞生长因子和 Sonic hedgehog，

它们诱导增殖并指令细胞维持放射状胶质干细胞的命运（Lehtinen et al. 2011；Paridaen et al. 2013）。继承较年轻中心体的子细胞最终将形成一个新的初级纤毛。但是，这个纤毛将从细胞的基端突出延伸出来，而不是从顶端表面，它将接触一系列能够影响它发育成祖细胞或者神经元的信号（Wilsch-Brauninger et al. 2012）。

还有另外一个机制参与决定放射状胶质干细胞的不对称分裂所产生的细胞的命运，这就是顶端蛋白 Par-3 如何被分配（**图 14.14A**）。通常，Par-3 维持细胞的顶 - 基极性。在脑发育中，Par-3 蛋白在细胞的顶部招募一个复合物，能够分隔一些细胞命运的诱导因子，如 Notch 信号蛋白。在不对称分裂中，一个子细胞比另外一个接收更多的 Par-3 蛋白（**图 14.14B**）。这个子细胞形成高水平的 Notch 信号活性并保持为干细胞。另外一个子细胞表达大量的 Delta 蛋白（Delta 是 Notch 配体），因此处在向神经元分化的待发状态（Bultje et al. 2009）。

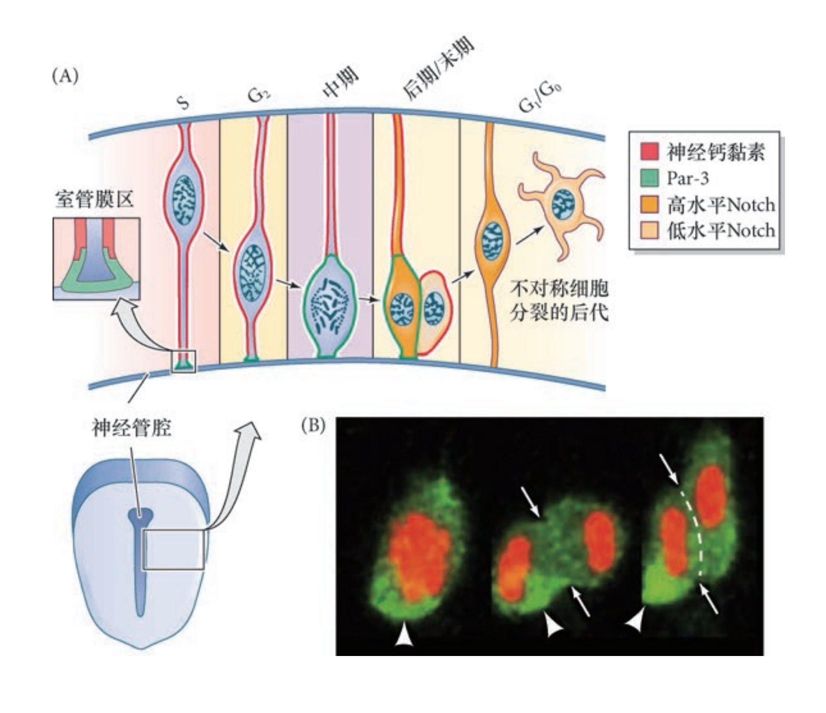


图 14.14　Par-3 和 Notch 介导的放射状胶质细胞的不对称分裂。(A) 鸡胚胎神经管的切面示意图，显示一个放射状胶质细胞中细胞核和 Par-3 蛋白在细胞周期过程中的位置变化。有丝分裂细胞位于邻近管腔的神经管内表面。Par-3 蛋白在这些管腔干细胞中的动态分布调节 Notch 信号途径成分在子细胞的细胞膜上的合成。有丝分裂时，Par-3 主要定位在其中一个子细胞。这个细胞表达高水平的 Notch 并维持为干细胞；接收较少 Par-3 的子细胞将表达较低水平的 Notch，变成一个神经祖细胞。(B) 将 Par-3 的基因与 GFP 融合后能观察 Par-3 蛋白在分裂时的运动，如这里显示的斑马鱼胚胎的后脑。Par-3（亮绿色）在一次不对称分裂后主要被分离在左侧的子细胞（箭头）。如图 A 所示，这个细胞将保持为干细胞。S：合成期；G_2：合成后期；G_1/G_0：合成前期 / 休止期（A 图参考 Bultje et al. 2009，Lui et al. 2011；B 图来自 Alexandre et al. 2010）。

高水平和低水平 Notch 的分隔是 Notch 抑制物 Numb 与 Par-3 共转运的直接结果。将这个抑制物招募到需要高水平 Notch 的干细胞中似乎有悖常理，但实际上 Par-3 能隔离并失活 Numb。缺少 Par-3 的子细胞具有活跃的 Numb，能降低 Notch 信号，因此能促进另一种（Delta 介导的）细胞命运（Gaiano et al. 2000；Rasin et al. 2007；Bultje et al. 2009）。

14.3　人脑的发育

人类与我们的近亲黑猩猩和矮黑猩猩之间有很多差异（Prüfer et al. 2012）。这些差异包括我们具有无毛和出汗的皮肤，以及跨步和双足行走的姿势。人类的男性也缺少阴茎骨和角质性的阴茎棘，这些都是其他灵长类雄性外生殖器的特征。但最为显著和最为重要的差异是脑的发育。人类新皮质的极大生长和不对称性，以及我们所具备的推理、记忆、未来计划、学习语言和文化技能这些高级能力使得人类在动物中无与伦比（Varki et al. 2008）。人类新皮质的发育具有显著的可塑性，而且是一个几乎在一直进行的工作。一些发育现象，其中有一部分也被其他灵长类共享，使得人类脑的发育有别于其他物种。这些现象包括：

- 大脑皮质的折叠；
- 人类特异性基因的活性；

- 高水平的转录；
- 人类特异性发育调节基因的等位基因；
- 脑的成熟一直持续到成年。

14.3.1 出生后胎儿神经元的生长速度

如果有一个能将人类与动物界的其他部分区分开来的发育特征，那将是我们保持胎儿期的神经元生长速度。人类和猿类的脑在出生前都有一个高的生长速度。但是在出生后，猿类脑的生长速度显著下降，而人类脑的快速生长仍然持续大约两年的时间（图 14.15A；Martin 1990；见 Leigh 2004）。Portmann（1941）、Montagu（1962）和 Gould（1977）都提出这样一个观点：我们第一年的生命基本上是“子宫外的胎儿”。

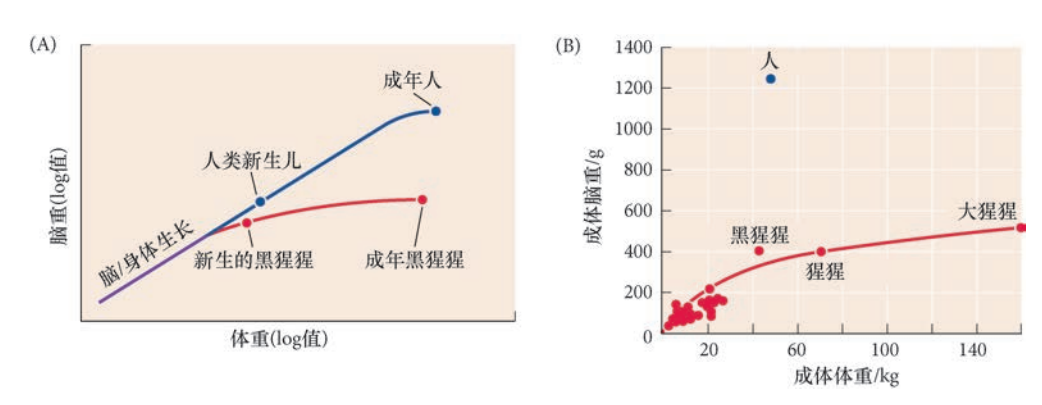


图 14.15 灵长类的脑生长。（A）其他灵长类（如黑猩猩）在出生时神经发生减弱，但人类新生儿中神经元产生的速度与胎儿脑相同。（B）人类的脑和体重比（大脑化指数）比猿类大约高 3.5 倍（参考 Bogin 1997；更新近的量化见 Herculano-Houzel 2012 和 Herculano-Houzel et al. 2015）。

据估计，在早期的出生后发育中，我们每分钟大约增加 250 000 个神经元（Purves and Lichtman 1985）。人类和猿类在出生时的脑重和体重比（大脑化指数）基本相似，但是在成体，人类的这个比例相对于其他灵长类完全“超标”（图 14.15B；Bogin 1997）。的确，如果你看一下猿类的成熟表，人类妊娠期应该是 21 个月。我们“过早”的出生是基于母体的骨盆宽度、胎儿的头围和胎儿肺的成熟在进化上的一个折中方案。在出生后保持胎儿期神经元生长速度的机制称为**超期生长**（**hypermorphosis**），这是超出祖先状态的发育延续（Vrba 1996；Vinicius and Lahr 2003）。

除了出生后产生的神经元，突触的数量也以天文数字增加。在人类生命的前几年，每立方厘米的皮质在细胞水平上每秒钟能形成不少于 30 000 个突触（Rose 1998；Barinaga 2003）。据推测，这些新神经元和迅速增殖的神经连接能够支持可塑性和学习、为记忆建立巨大的储存潜力，以及使我们能够掌握一些像语言、幽默和音乐的技能，也就是所有那些能使我们成为人类的事情。

网络话题 14.3 **神经元生长和童年期的发明** 一个有趣的假说声称早期脑生长的热量需求使得人类的生命周期有必要增加一个新时期，即童年期，在这个时期成年人为儿童活跃提供食物。

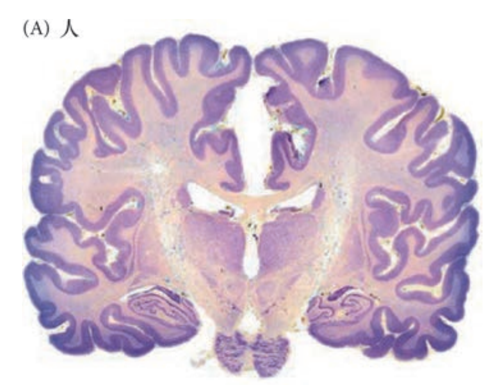
14.3.2 山峦提升了学习视野

大脑皮质的一个尤其重要的特征是脑的“山”和“谷”（也就是脑回和脑沟）的数目及复杂性，这与人脑的进化相关（Hofman 1985）。皮质卷曲的数目和复杂性在哺乳类物种中存在差异（图 14.16）。例如，人类和大象的大脑皮质呈现出高度折叠，即具有**多脑回**（**gyrencephalic**）；雪貂具有中等程度的多脑回；而小鼠完全没有折叠，也就是**无脑回**（**lissencephalic**）。大脑皮质折叠的数目和复杂性通常与智力水平相

关[3]，因而是人脑中独特发生的重要适应。是什么皮质折叠机制在哺乳动物中产生了多脑回脑的多样化？

毫不奇怪，研究皮质折叠是具有挑战性的，因为它发生在一些很难在实验室进行检测的哺乳动物。但是，近来关于哺乳动物皮质构造的工作配以基因组分析，已经开始解开这个谜团（见 Lewitus et al. 2013 综述）。令人惊讶的是，增多的皮质折叠并不一定伴随着大脑皮质神经元的增多，尽管这与脑表面区域的增多相关。有一个研究将皮质折叠与皱折的一张纸相比较，这样模拟后显示，如果整个表面的面积相对于皮质（或纸张）的厚度扩张更快，脑回就会增多（Mota and Herculano-Houzel 2015）。与此发现一致的是，更大的大脑会比较小的大脑有更多的折叠。而且，在人类的巨脑回疾病中，大脑的脑回和面积减少，尽管其神经元数目正常（Ross and Walsh 2001）。

能够提供机械力以产生大脑折叠的候选细胞是放射状胶质细胞。除了作为干细胞以外，放射状胶质细胞跨越整个大脑皮质，提供可能产生机械力的结构性支架。有趣的是，多脑回的脑比无脑回的脑有更大比例的增殖性放射状胶质细胞（特别是外层放射状胶质细胞）。而且，在多脑回的脑中，放射状胶质细胞相对于脑回和脑沟的分布及组织化也适合提供折叠所需的张力（图 14.17 和观察发育 14.4；Hansen et al. 2010；Shitamukai et al. 2011；Wang et al. 2011；Pollen et al. 2015）。总之，外层放射状胶质细胞的增加及它们的放射状纤维排列的生物力学为放射状胶质细胞直接参与皮质折叠的进化机制提供了有利的支持。



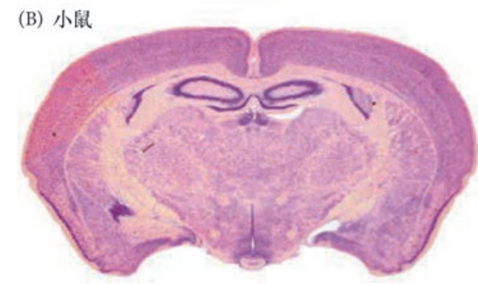


图 14.16　人和小鼠脑的横切面。尼氏（Nissl）染色标记多脑回的人脑（A）和无脑回的小鼠脑（B）的细胞核（来自 Lui et al. 2011）。

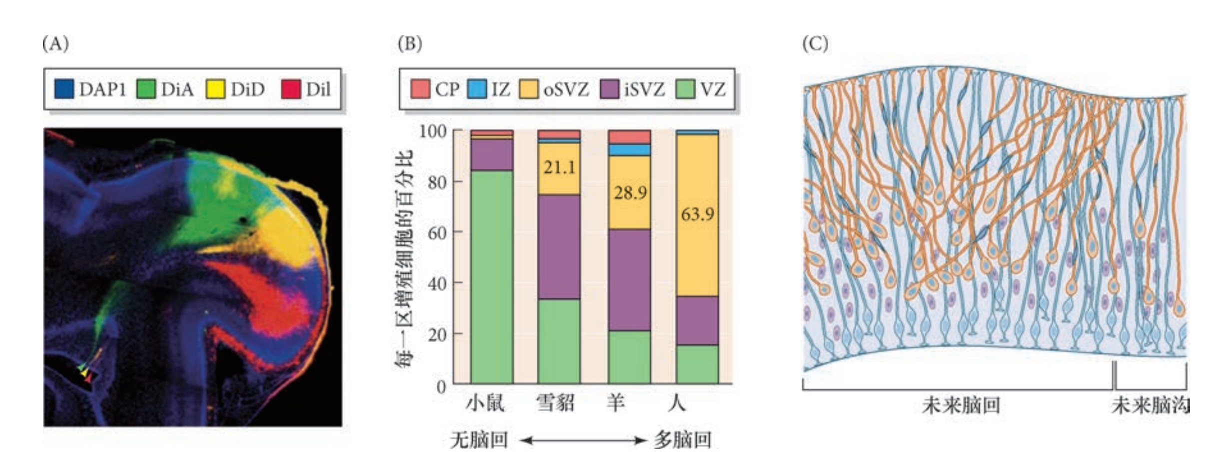


图 14.17　雪貂新皮质折叠过程中放射状胶质细胞铺展的特征描述。(A) 在神经发生和脑回形成过程中对雪貂新皮质的放射状胶质的逆向追踪。充满各种染料（见颜色码）的细胞呈三角形分布，表明放射状纤维沿顶 - 基轴逐渐铺展。与每种染料填充在软脑膜表面的末端宽度相比，左下方的箭头显示管腔表面的紧密细胞簇。(B) 无脑回和多脑回物种的大脑不同区域中有丝分裂细胞的量化。具有更多脑回的脑在外层室管膜下区有更高比例的增殖细胞。与无脑回的物种相比，这个区域也含有更多的外层放射状胶质细胞。(C) 将要形成一个脑回和脑沟的区域中室管膜（橙色）和外层放射状胶质（棕色）纤维的方向。外层放射状胶质显示更多斜向的纤维，这种结构被认为能够支持脑回的形成。CP：皮质板；IZ：中间区；oSVZ：外层室管膜下区；iSVZ：内层室管膜下区；VZ：室管膜区（A 图和 B 图参考 Reillo et al.2011；C 图来自 Lewitus et al. 2013）。

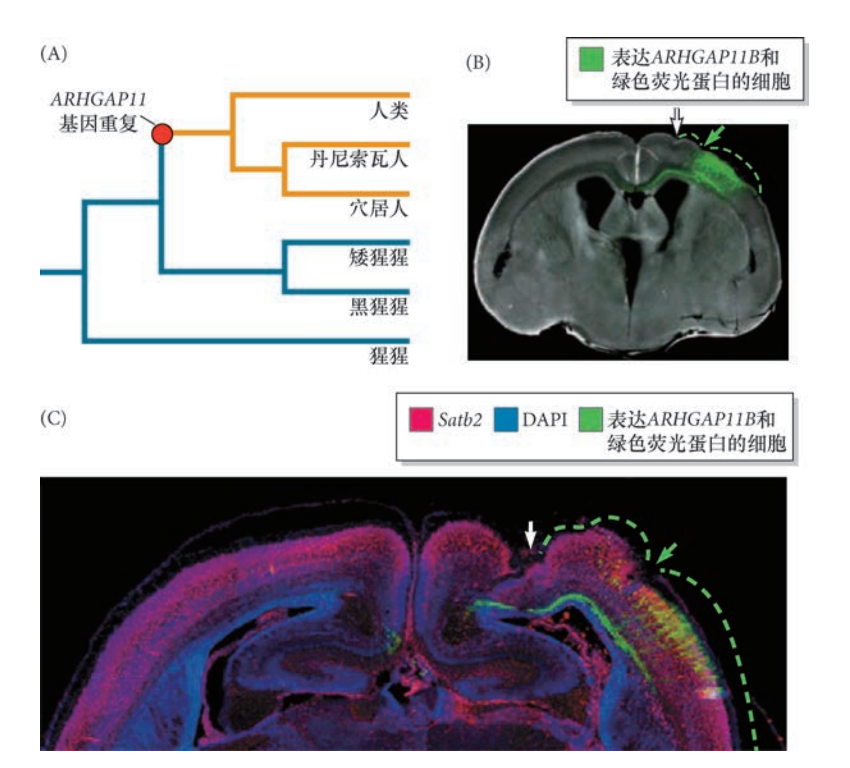
[3] 这个规范并不准确，例如，海豚和鲸类的皮质比人类有更多数量的折叠。

观察发育 14.4 这个视频对人的外层放射状胶质细胞在新皮质中经历有丝分裂和易位进行了追踪。

其他一些检测全转录组（一个生物体中基因表达的所有 RNA）的研究在人类发现了放射状胶质细胞与皮质折叠之间存在另一种关联（Florio et al. 2015；Johnson et al. 2015；Pollen et al. 2015）。例如，Walsh 及其同事（见 Johnson et al. 2015）的一个研究在人类和啮齿类之间比较了不同放射状胶质细胞的转录组。他们发现，人类的外层放射状胶质细胞差异性地表达一些参与钙信号、上皮到间充质转换、细胞迁移、特异性激活前神经转录调节物 neurogenin 的基因。

对 *ARHGAP11B* 基因的鉴别使得人们更加关注外层放射状胶质细胞在人类皮质发育中的独特作用。这个基因只发现于人类，而且特异地表达在放射状胶质细胞（不在皮质神经元中表达）。Huttner 及其同事通过电穿孔法将 *ARHGAP11B* 基因导入发育中的小鼠脑皮质（在正常情况下是无脑回的），使小鼠脑的皮质产生了类似脑回的折叠（图 14.18）。目前对 ARHGAP11B 的表达导致皮质折叠形成的具体机制尚不清楚，但这似乎与外层放射状胶质细胞数目的特异和显著增加有关（Florio et al. 2015）。这一发现对我们理解人类脑的进化具有特别重要的意义。人类的 *ARHGAP11B* 基因来自 *ARHGAP11A* 基因（动物中普遍存在的一个基因）的部分重复，在早期原始人偏离黑猩猩谱系后产生于人类谱系（见图 14.18A）。

网络话题 14.4 话语、语言和 *FOXP2* 基因 在人类，携带 *FOXP2* 基因突变的个体表现出严重的语言障碍。科学家正在研究这个基因对人类相对于其他灵长类获得语言能力的可能作用。



拓展性问题

如果外层放射状胶质细胞能够对软脑膜表面施加张力并促进大脑皮质的折叠，那么它们的顶端也许被某种东西固定在室管膜下区以提供组织折叠所需的抗力。鉴于这些干细胞与室管膜区放射状胶质细胞的特征性差异是缺少与管腔表面的附着，那么是什么绑定了这些外层放射状胶质细胞？需要多大的拉力才能使皮质折叠？

图 14.18 *ARHGAP11B* 在进化上是一个新的人类基因，能够在小鼠新皮质中诱导脑回的形成。(A) 灵长类的进化系统树，显示 *ARHGAP11B* 通过 *ARHGAP11A* 基因的部分重复在人类谱系中出现的位置。(B) 小鼠脑的横切面，显示细胞在子宫内被电穿孔法导入编码 GFP 和 ARHGAP11B 的载体时 GFP（绿色）的表达。(C) 在电穿孔法导入 *ARHGAP11B*（绿色）的小鼠中用新皮质标记物（Satb2；红色）进行免疫标记。细胞核用 DAPI 染色（蓝色）。B 图和 C 图中的虚线代表诱导产生的脑回，箭显示脑沟（来自 Florio et al. 2015）。

14.3.3　神经元生长的基因

除了 *ARHGAP11B*，还有哪些基因将我们与我们的近缘黑猩猩和矮黑猩猩区分开来？人类和这两种非人类的灵长类动物有显著相似的基因组。如果比较编码蛋白质的DNA，这三个基因组有大约99%的一致性。但是蛋白编码区只占这些基因组的2%左右。如果比较全基因组，人类和黑猩猩的核苷酸序列有4%的差别，并且大部分差别位于非编码区（见 Varki et al. 2008）。King 和 Wilson（1975）从他们对人和黑猩猩的蛋白质研究中推断，“黑猩猩和人类之间的生物体差别主要源自一小部分调节系统的遗传变化，而氨基酸替换通常在适应性漂移中几乎不是一个关键因素”。他们的结论是最早的关于进化源自发育调节基因变化的思路之一。

尽管有一些脑生长基因，如 *ASPM*（异常纺锤体样小头畸形相关蛋白的基因），或称为 *microcephalin-5*（小头畸形蛋白 -5 的基因）和 *microcephalin-1*（小头畸形蛋白 -1 的基因），它们的 DNA 序列在人类和猿类之间存在差异，但是这些差异与人脑的巨大生长没有关联。相反，一些关键的差别似乎位于这些基因的调控序列。这些序列可以是 DNA 的增强子区域或是产生非编码 RNA 的 DNA。非编码 RNA 在发育的脑中高度表达，尽管不产生自身的任何蛋白质产物，它们可以调节神经元转录因子的转录和翻译。比较不同哺乳动物基因组的计算机分析可能已经发现这些非编码 RNA 是人类脑进化的一个重要因素（Pollard et al. 2006a，b；Prabhakar et al. 2006）。首先，这些研究鉴别出相对较小的一组非编码 DNA 区域，其中的序列在所研究的非人类哺乳动物具有保守性。它们代表 2% 的基因组，有假说认为，如果这些区域在整个哺乳动物的进化中是保守的话，那么它们一定很重要。

然后，一些研究将这些序列与人类的同源物进行了比较，以鉴定是否有一些区域在人类和其他哺乳动物之间存在差异。大约有 50 个区域在哺乳动物中高度保守，但是在人类和黑猩猩之间迅速偏离。最快速的偏离发生在 *HAR1*（*human accelerated region-1*，人类加速区 -1），这个基因在人和黑猩猩之间出现了 18 个序列变化。*HAR1* 表达在人类和猿类发育中的脑，尤其是在表达 *Reelin* 的 Cajal-Retzius 神经元，这些神经元在 6 层新皮质的形成过程中引导神经元迁移（见图 14.13）。目前的研究旨在探索 *HAR1* 基因，以及基因组保守非编码区中其他 *HAR* 基因的功能。

科学家讲座 14.2　Sofie Salama 博士讨论 *HAR1* 基因和人脑发育的网络会议。

在灵长类基因组中寻找人类特有的 DNA 缺失发现了一些有意思的候选序列。回顾一下，一个抑制物的缺失等同于一个激活物的获得（考虑一下 Wnt 途径或者海胆卵裂球的双负阀），McLean 及其同事（2011）在黑猩猩和其他哺乳类的基因组中发现了 510 个序列，这些序列不存在于人类基因组。其中一个缺失是 *GADD45G* 基因的前脑增强子。这个基因编码一个生长抑制物，通常表达在黑猩猩和小鼠的前脑腹部区域，但在人类不表达。如果将一个报道基因与黑猩猩的 *GADD45G* 增强子融合，然后导入小鼠胚胎，报道基因就会在小鼠的脑表达。但是，如果与人的 *GADD45* 增强子融合，报道基因就不能在人的脑中表达，显示人的 *GADD45G* 增强子的确抑制一个抑制物（即 *GADD45G* 基因）。

14.3.4　高转录活性

在 20 世纪 70 年代，A. C. Wilson 提出，人类和黑猩猩之间的差异可能是由于它们的基因所产生的蛋白量（见 Gibbons 1998）。现在有证据支持这一假说。通过微阵列研究基因表达的整体图式，多个新近的研究发现，尽管人类和黑猩猩的肝及血液所表达的基因类型和数量的确极其相似，但人脑表达的 mRNA 比黑猩猩脑要多 5 倍（Enard et al. 2002a；Preuss et al. 2004）。在人类，一些基因（例如，*SPTLC1*，该基因的缺陷导致感觉神经损伤）的转录比黑猩猩皮质中相同基因的表达要高出 18 倍。其他一些基因（例如，*DDX17*，它的产物参与 RNA 加工）在人脑皮质中的表达仅为在黑猩猩脑皮质中表达

的 1/10。

14.3.5 青少年的脑：架线但没有连接

直到最近，大部分科学家认为，在胎儿发育和早期童年过程中神经元的初始生长之后，人脑的快速生长便停止。但是磁共振成像（MRI）研究显示，脑发育一直保持到青春期，并且脑的所有区域并非同时成熟（Giedd et al. 1999；Sowell et al. 1999）。在青春期之后不久，脑的生长停止，一些神经元突触的修剪开始出现。这一修剪的时间与语言获得出现困难的时间相关（这也许是儿童比成年人更容易学语言的原因）。这时在脑的某些区域还有一波髓磷脂的产生（来自神经元轴突周围的胶质细胞的“白质”）。髓鞘形成对于正常的神经功能至关重要。尽管髓鞘形成在整个成年期持续发生（Lebel and Beaulieu 2011），青春期早期的脑与成年早期的脑之间最大的差别见于额皮质（**图 14.19**；Sowell et al. 1999；Gogtay et al. 2004）。这些脑发育的差异也许能解释青少年对某些刺激的极端反应，以及他们学习某些任务的能力（或缺乏能力）。

在计算机屏幕上闪现充满情感画面的同时，利用功能性磁共振成像扫描受试者的脑，青少年的脑显示出介导恐惧和强烈情感的杏核仁活动。如果向年龄较大的青少年展示同样的画面，他们的大部分脑活动集中在额叶，这是一个更多参与理性认知的区域（Baird et al. 1999；Luna et al. 2001）。这些数据主要来自比较不同组个体的研究。但是，正在改进的技术已经可以测试独立个体的脑随时间推移的成熟过程（Dosenbach et al. 2010）。青少年的脑是一个难以理解的复杂和动态实体（就像所有父母知道的那样）。然而，一旦过了青春期，成年的脑即便是在情感冲击的状态下通常也能做出理智的决定。

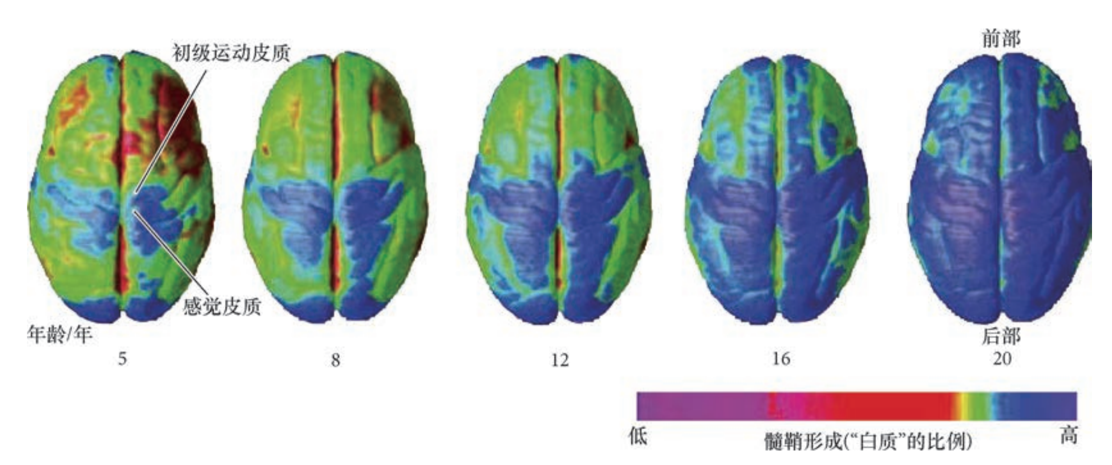
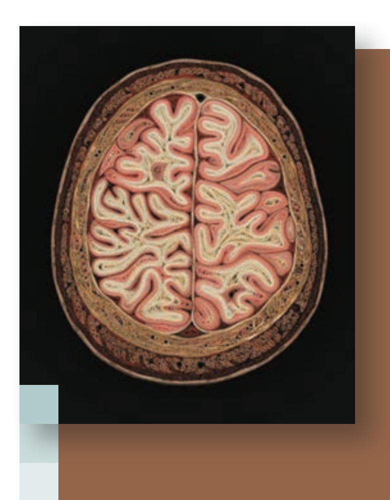


图 14.19 人脑的背面观，显示青春期皮质表面髓鞘形成（白质）的进程（由 N. Gogtay 提供）。

下一步的研究

我们对胚胎神经干细胞微环境的了解还相当有限。不像脊髓，脑的复杂性使得建立一个整合所有成分的综合模型更具有挑战性，这些成分包括细胞类型、细胞分裂方式、各种分子调节物、物理力、基因调控网络和表观遗传修饰物。如果再加上时间和细胞运动因素，就会进一步增加这个挑战性。我们可以在无脊椎动物如秀丽隐杆线虫和果蝇，以及在脊椎动物如非洲爪蛙和斑马鱼，通过研究较为简单的脑发育模式系统来获得认知。



开篇图的思考

人类的复杂性：它们折叠得有多深？我们具有的大而折叠的脑是我们人类的一部分。这张照片是 Lisa Nilsson 创作的一个雕塑品，她将彩纸经过复杂的折叠做成人类解剖学的解剖横截面，这里是脑的折叠（http：//lisanilssonart.com/home.html）。除了它的美感之外，这是与皱折的纸相比来模拟皮质折叠的研究的艺术再现，我们在本章对此进行了讨论。而且，你已经知道皮质中干细胞类型的数目的增加和独特基因表达的变化（如 *HAR1* 和 *ARHGAP11B*）是人脑复杂性的一些主要因素，并且是其进化的基础。最后，在整个成年期，人脑继续生长并且发育成高度的髓鞘化结构，这是如此神奇，它能够通过艺术来创造自身的结构（照片由 Lisa Nilsson 提供）。

14 要点总结

脑生长

1. 树突接收来自其他神经元的信号，轴突传递信号到其他神经元。使信号从一个神经元传递到另一个神经元（通过释放神经递质）的细胞间空隙称为突触。整个中枢神经系统中有数量众多的各种神经元形态。
2. 中枢神经系统的大胶质细胞类型是星形胶质（星形胶质细胞）、少突胶质细胞（成髓鞘细胞）、小胶质（神经系统的免疫细胞）。
3. 放射状胶质细胞在胚胎和胎儿的脑中作为神经干细胞。人类在整个生命中持续产生神经元，尽管远不如胎儿期的速度。
4. 脑中的神经元组织成层和核团（簇）。
5. 新神经元由神经管壁（称为室管膜区）的神经干细胞（神经上皮细胞，放射状胶质细胞）通过分裂而产生。这样形成的新生神经元能迁移离开室管膜区而形成新的一层，称为套区（灰质）。后来形成的神经元必须迁移穿过已有的细胞层。这一过程形成了皮质层。
6. 新生神经元和祖细胞在放射状胶质细胞的突出上迁移出室管膜区。
7. 在小脑，迁移的神经元形成一个次级生发区，称为外颗粒层。
8. 哺乳动物的大脑皮质称为新皮质，具有 6 层。每层的功能和所具有的神经元都不相同。
9. 室管膜放射状胶质细胞能产生外层放射状胶质细胞，分布在室管膜下区。这两种干细胞都能产生中间祖细胞，这些中间祖细胞自身也能继续进行对称和不对称分裂。
10. 在小脑和大脑，分泌性 Reelin 蛋白通过调节神经钙黏素和整联蛋白的表达，以一个“由内向外”的生长进程引导迁移细胞到达正确的表面层。
11. Par-3 蛋白在放射状胶质细胞分裂时的不对称分隔将活化的 Notch 信号限制在室管膜区放射状胶质细胞，在一个子细胞中促进干性，而另外一个子细胞中的 Delta 活性支持其分化。
12. 新皮质的脑回和脑沟的数目及复杂性与智力水平相关。人类具有高度折叠（多脑回）的新皮质。放射状胶质细胞很可能在这些折叠的发育中起主要作用。
13. 人脑似乎通过在童年早期维持胎儿期的神经生长速度、某些基因的高转录活性、发育调控基因的人类特异性等位基因的表达，以及一些转录调节物的缺失而有别于其他灵长类的脑。

拓展阅读

Alexandre, P., A. M. Reugels, D. Barker, E. Blanc and J. D. Clarke. 2010. Neurons derive from the more apical daughter in asymmetric divisions in the zebrafish neural tube. *Nature Neurosci.* 13: 673–679.

Azevedo, F. A. and 8 others. 2009. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J. Comp. Neurol.* 513: 532–541.

Bentivoglio, M. and P. Mazzarello. 1999. The history of radial glia. *Brain Res. Bull.* 49: 305–315.

Bultje, R. S., D. R. Castaneda-Castellanos, L. Y. Jan, Y. N. Jan, A. R. Kriegstein and S. H. Shi. 2009. Mammalian Par3 regulates progenitor cell asymmetric division via Notch signaling in the developing neocortex. *Neuron* 63: 189–202.

Casper, K. B. and K. D. McCarthy. 2006. GFAP-positive progenitor cells produce neurons and oligodendrocytes throughout the CNS. *Mol. Cell. Neurosci.* 31: 676–684.

Erikksson, P. S., E. Perfiliea, T. Björn-Erikksson, A.-M. Alborn, C. Nordberg, D. A. Peterson and F. H. Gage. 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Med.* 4: 1313–1317.

Fuentealba, L. C., S. B. Rompani, J. I. Parraguez, K. Obernier, R. Romero, C. L. Cepko and A. Alvarez-Buylla. 2015. Embryonic origin of postnatal neural stem cells. *Cell* 161: 1644–1655.

Hatten, M. E. 1990. Riding the glial monorail: A common mechanism for glial-guided neuronal migration in different regions of the mammalian brain. *Trends Neurosci.* 13: 179–184.

Kwan, K. Y., N. Sestan and E. S. Anton. 2012. Transcriptional co-regulation of neuronal migration and laminar identity in the neocortex. *Development* 139: 1535–1546.

Lewitus, E., I. Kelava and W. B. Huttner. 2013. Conical expansion of the outer subventricular zone and the role of neocortical folding in evolution and development. *Front. Hum. Neurosci.* 7: 424.

Mota, B. and S. Herculano-Houzel. 2015. Cortical folding scales universally with surface area and thickness, not number of neurons. *Science* 349: 74–77.

McLean, C. Y. and 12 others. 2011. Human-specific loss of regulatory DNA and the evolution of human-specific traits. *Nature* 471: 216–219.

Paridaen, J. T., M. Wilsch-Brauninger and W. B. Huttner. 2013. Asymmetric inheritance of centrosome-associated primary cilium membrane directs ciliogenesis after cell division. *Cell* 155: 333–344.

Paridaen, J. T. and W. B. Huttner. 2014. Neurogenesis during development of the vertebrate central nervous system. *EMBO Rep.* 15: 351–364.

Pollen, A. A. and 13 others. 2015. Molecular identity of human outer radial glia during cortical development. *Cell* 163: 55–67.

Sekine, K. and 7 others. 2012. Reelin controls neuronal positioning by promoting cell-matrix adhesion via inside-out activation of integrin α5β1. *Neuron* 76: 353–369.

Trommsdorff, M. and 8 others. 1999. Reeler/Disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. *Cell* 97: 689–701.

Varki, A., D. H. Geschwind and E. E. Eichler. 2008. Explaining human uniqueness: Genome interactions with environment, behaviour, and culture. *Nature Rev. Genet.* 9: 749–763.

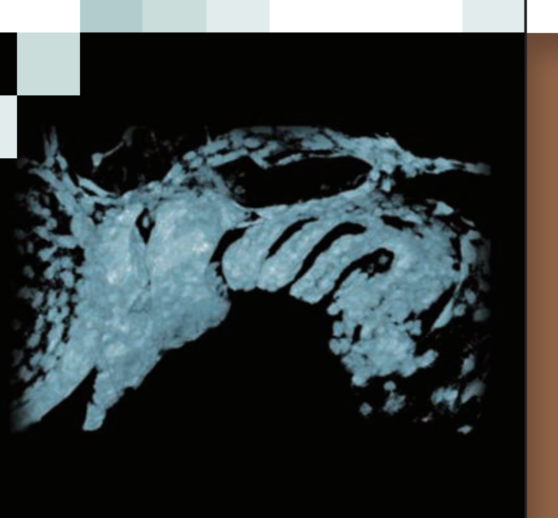
浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 15 章

神经嵴细胞和轴突特异性

这注定是一个面部吗？



我们继续讨论外胚层的发育，本章将集中介绍两个显著的实体：①神经嵴，其中的细胞产生面部骨骼、色素细胞和周围神经系统；②神经轴突，其生长锥引导它们到达目的地。神经嵴细胞和轴突生长锥至少具有两个共同的核心特征：两者都具有运动性，并且都侵入神经系统以外的组织。

15.1 神经嵴

虽然来源于外胚层，但由于其重要性，神经嵴有时也被称为“第四胚层”（见 Hall 2009）。甚至有些夸张的说法提到，“脊椎动物唯一有趣的事情就是神经嵴”（Thorogood 1989）。毫无疑问，神经嵴的出现是动物进化的关键事件之一，因为它产生了脊椎动物的颌、面部、颅

要点

神经嵴细胞和轴突生长锥都从它们的起始位置长途迁移到胚胎的特定区域。在这个过程中，它们必须能够识别和应答那些引导它们经过特定途径而到达目的地的信号。神经嵴细胞源于神经管的顶部，以群体或单个细胞的形式离开这个位置。这些局限性多能干细胞经过躯干和头部的一些途径，分化成多种细胞类型，如神经元、平滑肌、色素细胞和软骨。新生的神经元延伸出一个生长的轴突突出，被运动性的生长锥尖端引导，经过胚胎组织，与目标细胞形成突触。神经嵴细胞和轴突生长锥都通过跨膜受体来解读短距离和长距离的导向信息。这些信息引起迁移细胞内细胞骨架的变化，使细胞在旅行的过程中受到吸引或排斥。这些导向分子包括间质细胞衍生因子、肝配蛋白、Slit 及 semaphorin 家族的成员。一些通用的形态发生素作为非经典的导向信息，以及一些神经营养因子对神经元存活的调节，在这个过程中也同样重要。

骨和双侧感觉神经元（Northcutt and Gans 1983）。

神经嵴是一个过渡性的结构。成体及脊椎动物胚胎发育后期并没有神经嵴。神经嵴的细胞在神经管背部经历一个上皮到间质转换的过程，之后，它们沿胚胎的前 - 后轴广泛迁移，产生数量惊人的各种细胞类型（图 15.1；表 15.1）。

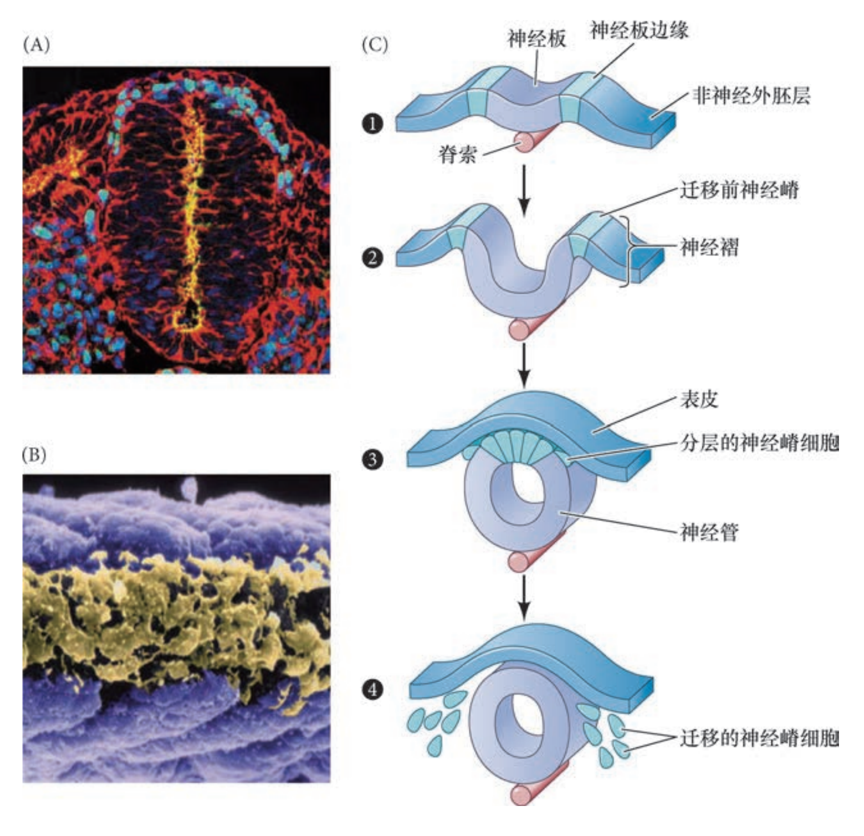


图 15.1　神经嵴细胞的迁移。（A）神经嵴是一个位于神经管背部的过渡性结构。神经嵴细胞（在图中被染成蓝色）在神经管最背部的部位（图的顶部）进行上皮到间充质转换。（B）将脊椎动物胚胎的皮肤从背部表面去除后，位于神经管上部的一群间充质细胞即为神经嵴细胞（图中经过计算机处理成金色的细胞，以紫色的体节为衬托）。（C）图示说明神经嵴发育中依次经历的几个过程：首先是神经嵴在神经板边缘的特化①，之后定位于神经褶的顶部②，随后在神经管闭合处进行分层③，最后迁移出外胚层组织④（A 图由 J. Briscoe 提供；B 图由 D. Raible 提供）。

表 15.1　神经嵴的部分衍生物

衍生组织	细胞类型或结构
周围神经系统	神经元，包括感觉神经节、交感和副交感神经节、神经丛 神经胶质细胞 施万细胞和其他胶质细胞
内分泌和旁分泌组织	肾上腺髓质 降钙素分泌细胞 颈动脉体 I 型细胞
色素细胞	上皮色素细胞
面部软骨和骨骼	面部及前端腹侧的颅软骨和骨骼
结缔组织	角膜内皮和基质 牙乳头 真皮、平滑肌，以及皮肤、头部和颈部的脂肪组织 唾液腺、泪腺、胸腺、甲状腺和垂体的结缔组织 源自主动脉弓的动脉中的结缔组织和平滑肌

来源：参考 Jacobson 1991，以及基于其他多个来源。

15.1.1　神经嵴的区域化

神经嵴（**neural crest**）是一个能产生多种组织的细胞群体，这些组织包括：①感觉、交感和副交感神经系统中的神经元和胶质细胞；②肾上腺的肾上腺素分泌细胞（髓质）；③表皮的色素细胞；④头部的很

多骨骼和结缔组织成分。神经嵴可以分成四个主要（但重叠）的解剖学区域，每个区域都有特征性的衍生组织和功能（图 15.2）。

1. **颅或头神经嵴**（**cranial** or **cephalic neural crest**）细胞迁移后产生颅面间充质细胞，这些细胞分化成软骨、骨骼、颅神经元、神经胶质、色素细胞，以及面部的结缔组织。它们也进入咽弓[1]和咽囊，产生胸腺细胞、牙原基的成牙本质细胞，以及中耳和颌的骨骼。
2. **心脏神经嵴**（**cardiac neural crest**）是颅神经嵴的一个分区，从听（耳）基板延伸到第三体节（Kirby 1987；Kirby and Waldo 1990）。心脏神经嵴细胞发育成黑素细胞、神经元、软骨和结缔组织（第三、第四和第六咽弓）。这个区域的神经嵴在大动脉（流出道）从心脏生长出来时形成其中的整个肌肉结缔组织壁。它也参与形成肺循环与主动脉之间的隔膜（Le Lièvre and Le Douarin 1975；Sizarov et al. 2012）。
3. **躯干神经嵴**（**trunk neural crest**）经过两种主要的迁移途径之一。第一个途径使躯干神经嵴细胞穿过每个体节的生骨节的前半部分向腹外侧运动。来自体节的**生骨节**（**sclerotome**）是将要分化成脊椎的锥软骨的中胚层细胞团（见第 17 章）。停留在生骨节中的躯干神经嵴细胞形成含有感觉神经元的**背根神经节**（**dorsal root ganglion**）[2]。继续向更腹侧迁移的细胞形成交感神经节、肾上腺髓质和环围主动脉的神经丛。躯干神经嵴细胞的第二个途径是背外侧方向，使得黑素细胞前体穿过皮肤的真皮从背部迁移到腹部（Harris and Erickson 2007）。
4. **迷走**和**骶神经嵴**（**vagal** and **sacral neural crest**）细胞产生肠的**副交感神经节**（**parasympathetic ganglion**），或称为**肠神经节**（**enteric ganglion**）。迷走（颈部）神经嵴与颅 / 躯干神经嵴的边界重叠，位于鸡胚胎的第 1 ～ 7 体节的对侧，而骶神经嵴位于第 28 体节之后（Le Douarin and Teillet 1973；Pomeranz et al. 1991）。如果神经嵴细胞不能从这些区域迁移到结肠，肠神经节将会缺失，因此肠道就无法蠕动（导致先天性巨结肠病；见第 438-440 页）。

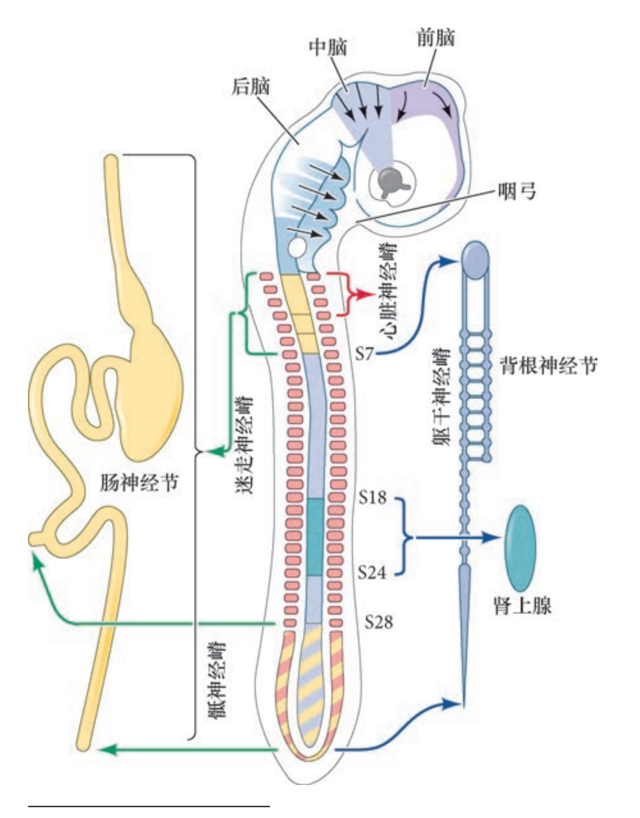


图 15.2　鸡胚胎的神经嵴区域。颅神经嵴迁移进咽弓和面部，形成面部和颈部的骨骼和软骨。它还参与形成颅神经。迷走神经嵴（靠近第 1 ～ 7 体节）和骶神经嵴（位于第 28 体节之后）形成肠的副交感神经。心脏神经嵴细胞来自邻近第 1 到第 3 体节的位置，它们对分隔主动脉和肺动脉至关重要。躯干部分的神经嵴细胞（从大约第 6 体节至尾部的区间）产生交感神经元和色素细胞（黑素细胞），其中一部分（位于第 18 ～ 24 体节的区间）形成肾上腺的髓质部分。S7：第 7 体节；S18：第 18 体节；S24：第 24 体节；S28：第 28 体节（参考 Le Douarin 1982）。

[1] 咽（腮）弓（见图 1.8）是头部和颈部区域向外隆突而形成的结构，颅神经嵴细胞能迁移进去。在这些咽弓之间形成的咽囊将变成甲状腺、甲状旁腺和胸腺。

[2] 回顾第 13 章的内容，神经节是一簇神经元，而神经元的轴突形成一个神经。

躯干神经嵴细胞和颅部神经嵴细胞并不等同。颅神经嵴细胞形成软骨、肌肉、骨骼及角膜的结缔组织，而躯干神经嵴细胞则不具备这样的能力。当躯干神经嵴细胞被移植到头部区域时，它们能迁移到形成软骨和角膜的位置，但却既不能形成软骨也不能形成角膜（Noden 1978；Nakamura and Ayer-Le Lievre 1982；Lwigale et al. 2004）。然而，颅神经嵴和躯干神经嵴都能产生神经元、黑素细胞和神经胶质。如果颅神经嵴区域被移植到躯干区域，在正常情况下迁移到眼部形成软骨的颅神经嵴细胞就能在新的位置产生感觉神经节的神经元、肾上腺髓质细胞、神经胶质和施万细胞（Noden 1978；Schweizer et al. 1983）。

躯干神经嵴细胞不具备形成骨骼的能力很可能是因为它们表达一些同源异形基因。如果使颅神经嵴表达同源异形基因，那么这些细胞也不能产生骨骼组织；如果躯干神经嵴细胞不表达同源异形基因，它们就能形成骨骼。而且，如果将颅神经嵴细胞移植到躯干区域，它们就能参与形成躯干软骨，而这些软骨在正常情况下并不来自神经嵴。因此，形成骨骼的能力可能是神经嵴的原始特征，可能在几种已经灭绝的鱼类中对骨甲的形成至关重要（Smith and Hall 1993）。换句话说，并不是颅神经嵴获得了形成骨骼的能力，而是躯干神经嵴失去了这个能力。McGonnell 和 Graham（2002）证明，躯干神经嵴仍具有形成骨骼的潜在能力：如果将躯干神经嵴细胞与一些激素和维生素进行体外共同培养，在植入头部后这些细胞就能形成骨骼和软骨。而且，Abzhanov 及其同事（2003）也证明，如果躯干神经嵴细胞被培养在一些使它们不表达同源异形基因的条件下，它们就能表现出类似于颅神经嵴的特征（形成骨骼组织）。

因此，尽管颅神经嵴和躯干神经嵴的细胞都具有局限多能性（一个颅神经嵴细胞能形成神经元、软骨、骨骼和肌肉；一个躯干神经嵴细胞能形成神经胶质、色素细胞和神经元），但在正常情况下它们却产生不同的细胞类型[3]。

发育辅导课 神经嵴细胞的发育 **Michael Barresi** 博士描述神经嵴细胞在中枢神经系统之外寻找它们的预定组织和分化成各种细胞类型时所经历的非凡之旅。

15.1.2 神经嵴：局限性多能干细胞？

对于离开神经嵴的大多数单个细胞是否具有局限多能性，或者，大多数细胞是否已经被限定到某些命运，长期以来一直存在争议。Bronner-Fraser 和 Fraser（1988，1989）提供了首个证据，说明单个躯干神经嵴细胞在离开神经嵴时具有局限多能性。他们在鸡的神经嵴细胞仍位于神经管时将荧光葡聚糖分子注射进细胞，然后在这些细胞迁移后检测它们的子代变成了哪些细胞类型。单个神经嵴细胞的子代能变成感觉神经元、黑素细胞（产生色素的细胞）、神经胶质（包括施万细胞），以及肾上腺髓质的细胞。其他一些研究表明，最初的鸟类躯干神经嵴群体是一些前体细胞的异质混合物，有接近一半来自神经嵴的细胞只产生一种细胞类型（Henion and Weston 1997；Harris and Erickson 2007）。

随着更好的谱系追踪方法的出现，上述争议目前可能已经结束。Sommers 实验室的研究人员利用“五彩斑斓”的小鼠模型[4]追踪了迁移前和迁移期单个躯干神经嵴细胞及其子代细胞（Baggiolini et al. 2015）。对近 100 个迁移前和迁移中的神经嵴细胞进行追踪后显示，大约 75% 的细胞进行了增殖，它们的子代细胞显示出能够分化成不同细胞类型的多种谱系：背根神经节、交感神经节、包裹腹神经根的施万细胞及黑素细胞（图 **15.3**）。虽然这些被标记的神经嵴细胞中有一个很小的群体是单潜能的，但绝大部分细胞在整个迁移过程中呈现出局限多能性。这个发现有力说明了小鼠胚胎的躯干神经嵴细胞是局限性多能干细胞。这是在神经嵴研究领域迈出的重要一步。

---

[3] 在第 16 章，你可以了解更多关于神经嵴在牙齿、毛发和颅神经发育中的作用。

[4] 我们在第 2 章介绍了基于“脑彩虹法”的命运图谱，并在第 5 章描述了利用“五彩斑斓”小鼠模型进行谱系追踪。

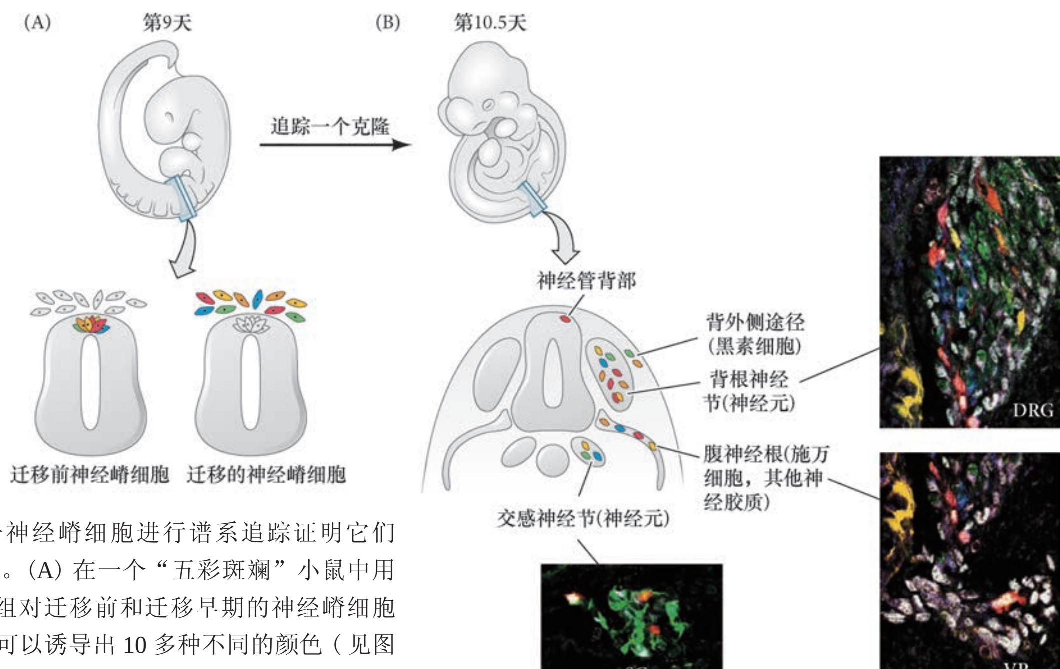


图 15.3　对小鼠躯干神经嵴细胞进行谱系追踪证明它们是局限性多能干细胞。(A) 在一个“五彩斑斓”小鼠中用 Cre 重组酶介导的重组对迁移前和迁移早期的神经嵴细胞进行标记。这种方法可以诱导出 10 多种不同的颜色（见图 2.13)。(B) 研究人员追踪了单个颜色的克隆在发育后期形成的结构。带荧光的细胞见于黑素细胞分化的背外侧途径、背根神经节 (DRG)、腹神经根 (VR) 的一部分施万细胞群体及交感神经节。显微照片显示对迁移前细胞用诱导型瞬时激活的 (*Wnt1-CreER*^{T}) 转基因标记后进行的谱系追踪，这些细胞在三个不同的周围结构（用细胞特异标记物显示）呈现出一个独特的黄色荧光蛋白和红色荧光蛋白的组合。（参考 Baggliolini et al. 2015）。

袖珍指南

关于 Nicole Le Douarin 的工作这一部分显示了一些实验技术的原画面，以及她在神经嵴细胞重新组织、迁移和分化方面的研究结果。

拓展性问题

看来现在我们可以确信躯干神经嵴细胞是局限性多能干细胞。是否有这样一种可能性，这些细胞中的一些小群体，像新的发育种子一样广泛散播，在它们的最终目的地被保留为成体干细胞？在很多组织中，干细胞的个体发生还不清楚。神经嵴细胞的迁移性和局限多能性提出了一个假设：它们也许能够散播在这些成体组织。

下一个顺理成章的问题就是颅神经嵴细胞是否具有相同的局限多能性。在鸡胚胎中大多数早期迁移的颅神经嵴细胞都能产生多种细胞类型 (Calloni et al. 2009)，但目前还不清楚它们是否的确是局限性多能干细胞。

Nicole Le Douarin 及其他人提出了一个神经嵴发育的模型，即使是现在已经有了关于局限多能性的新信息，这个模型可能仍然是正确的。在这个模型中，一个初始的局限多能性神经嵴细胞进行分裂并逐渐细化其发育潜能（图 15.4；Creuzet et al. 2004；Martinez-Morales et al. 2007；Le Douarin et al. 2008）。要直接验证这个模型，需要使一个单一的神经嵴细胞接触不同的环境，以确定它所能产生的各种细胞类型。

15.1.3　神经嵴细胞的特化

虽然神经嵴细胞直到它们从神经管迁移出来之后才能被识别，但这些细胞的诱导在早期原肠胚形成时就已经发生在预定表皮和预定神经板（将要形成中枢神经系统的区域）的交界处。神经嵴在这个位置的特化是一个多步骤的过程（见 Huang and Saint-Jeannet 2004；Meulemans and Bronner-Fraser 2004）。第一步可能是神经板边缘的特化。位于神经板和表皮之间的细胞将变成神经嵴和（在前部区域）一些**基板** (**placode**)。这些基板是表面外胚层的增厚，它们将形成眼的晶状体、内耳、嗅觉上皮和其他一些感

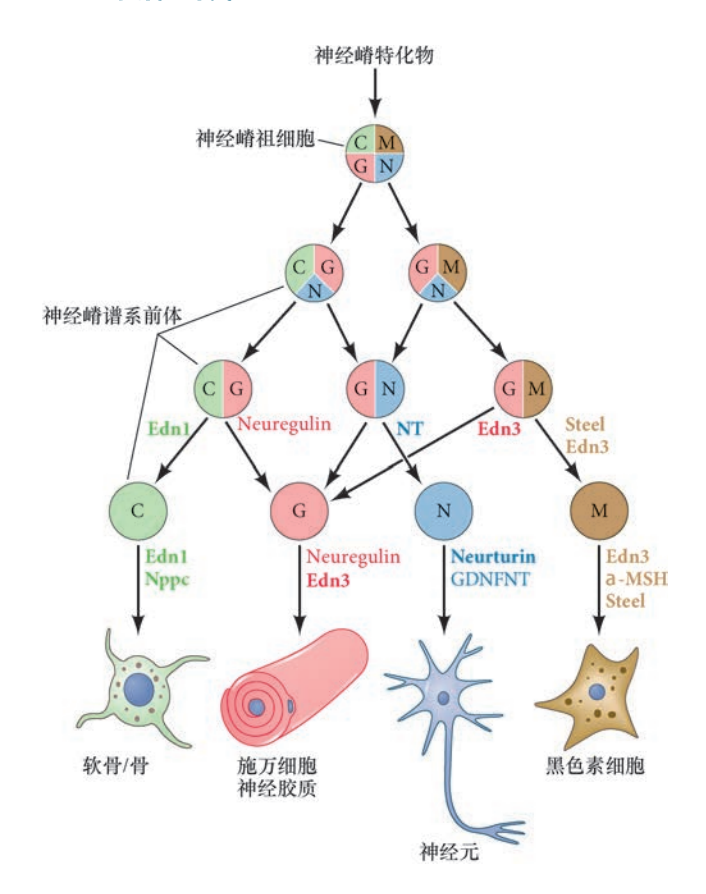


图 15.4 神经嵴细胞谱系分离的模型和神经嵴细胞的异质性。命运定型的软骨或骨（C）、神经胶质（G）、神经元（N）和黑色素细胞（M）来自居间祖细胞，其中一部分能作为干细胞。调节这些步骤的一些旁分泌因子用彩色显示。Edn：内皮肽；Neuregulin：神经调节蛋白；Neurturin：神经生长因子；Nppc：C 型利尿钠肽；NT：神经营养因子；α-MSH：α- 促黑素细胞激素；GDNF：胶质细胞源性神经营养因子（参考 Martinez-Morales et al. 2007）。

觉结构（见第 16 章）。在两栖类，神经板边缘的特化受控于多种**神经板诱导信号**（**neural plate inductive signal**）的相互作用，包括骨形态发生蛋白、Wnt 和成纤维细胞生长因子。的确，在 20 世纪 40 年代，Raven 和 Kloos（1945）显示，尽管预定脊索能在两栖类中诱导神经板和神经嵴组织（可能是阻断所有的骨形态发生蛋白），体节和侧板中胚层仅能诱导神经嵴。在鸡胚胎，神经嵴的特化发生在原肠胚形成过程中神经和非神经的边界正在形成的时间（Basch et al. 2006；Schmidt et al. 2007；Ezin et al. 2009）。腹部外胚层和轴旁中胚层分泌的神经板诱导信号（特别是骨形态发生蛋白和 Wnt）相互作用以特化这个边界。

在前部区域，骨形态发生蛋白和 Wnt 的表达时间对神经板、表皮、基板和神经嵴组织的区分有关键作用（图 15.5）。像我们在第 11 章和第 12 章看到的那样，如果骨形态发生蛋白和 Wnt 信号持续存在，外胚层将获得表皮的命运；如果骨形态发生蛋白的抑制物（如头蛋白或成纤维细胞生长因子）抑制骨形态发生蛋白信号，外胚层将变成神经组织。Patthey 及其同事（2008，2009）的研究证明，如果 Wnt 信号在诱导骨形态发生蛋白后被关闭，细胞将被定型为前部基板，但是，如果 Wnt 信号在诱导骨形态发生蛋白后仍维持开启，细胞则能变成神经嵴。

近几十年来对神经嵴特化的研究帮助建立了参与神经嵴细胞成熟的基因调控网络（图 15.6）。这个基因调控网络起始于 Wnt 和骨形态发生蛋白对一组转录因子（包括 Gbx2、Zic1、Msx1 和 Tfap2）在外胚层表达的诱导，这些转录因子进而调节**神经板边缘特化物**（**neural plate border specifier**）。这些特化物，包括 Pax3/7 和 Dlx5/6，共同赋予边缘区域形成神经嵴及神经管背部细胞类型的能力。然后，这些特化边缘的转录因子在将要变成神经嵴的细胞中诱导第二组更特异的转录因子，即**神经嵴特化物**（**neural crest specifier**），包括 FoxD3、Sox9 和 Snail（迁移前）及 Sox10（迁移中）等转录因子（Simões-Costa and Bronner 2015）。

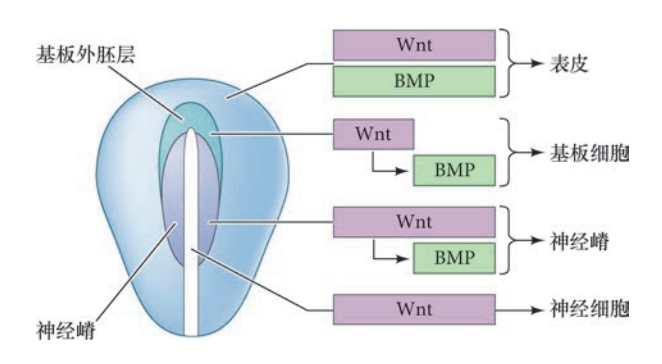


图 15.5 神经嵴细胞的特化。神经板的前部和后部紧邻神经嵴，前部还紧邻基板外胚层。如果外胚层长时间接收骨形态发生蛋白和 Wnt 信号，它将变成表皮。如果 Wnt 信号在诱导骨形态发生蛋白（BMP）后被下调，外胚层将变成基板细胞（表达基板特化物基因 *Six1*、*Six4* 和 *Eya2*）。如果 Wnt 信号在诱导骨形态发生蛋白后仍维持活性，这些神经板和表皮之间的边缘细胞将变成神经嵴（表达神经嵴特化物基因 *Pax7*、*Snail* 和 *Sox9*）。如果外胚层细胞只接收 Wnt 信号（因为骨形态发生蛋白信号被头蛋白或成纤维细胞生长因子所抑制），它们将变成神经细胞。（参考 Patthey et al. 2009）。

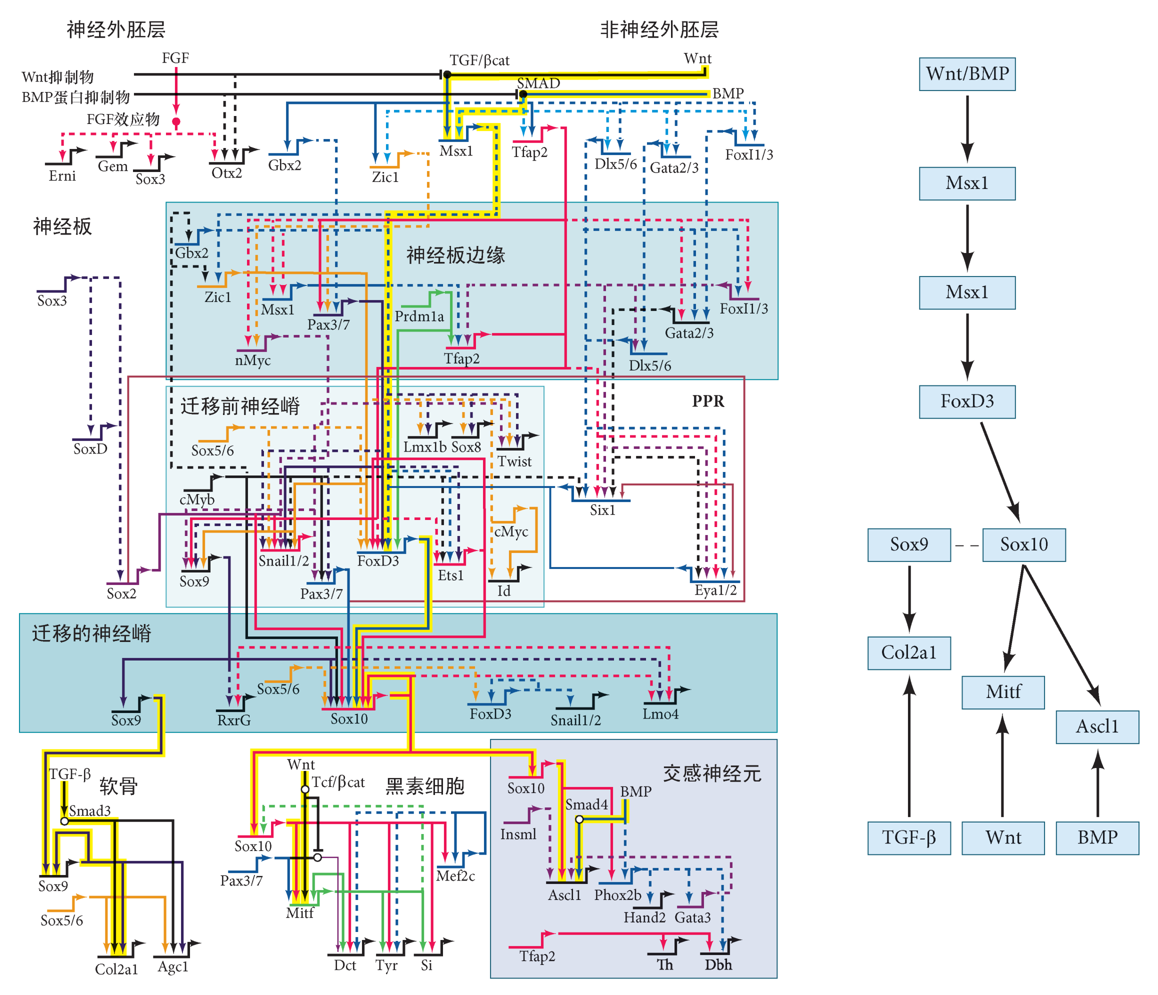


图 15.6　神经嵴发育的基因调控网络。这个网络汇编了多种脊椎动物的研究数据。图中最重要的回路之一（黄色突出标记）显示细胞从早期外胚层（上部）到衍生细胞类型（底部）的基因表达。右侧复制了一个简单的线性流程图（图中没有列出所有的衍生细胞类型）。PPR：未来色素视网膜；FGF：成纤维细胞生长因子；TGF/βcat：转化生长因子 /β- 联蛋白；BMP：骨形态发生蛋白；Mitf：小眼畸形相关转录因子（参考 Simões-Costa and Bronner 2015）。

如果用实验的方法使神经管的侧部表达 Foxd3、Snail、Sox9 和 Sox10，那么侧部的神经上皮细胞将变成神经嵴样的细胞，进行上皮到间充质转换，并从神经上皮中分层。

- Sox9 和 Snail 的共同作用足以诱导神经上皮细胞进行上皮到间充质转换。Sox9 对于躯干神经嵴细胞在分层后的存活也是必需的（如果没有 Sox9，神经嵴细胞在分层后就经历细胞凋亡）。
- Foxd3 可能有很多作用。它调节细胞迁移所需的细胞表面蛋白的表达，似乎对外胚层细胞向神经嵴的特化也有关键作用。抑制 *Foxd3* 基因的表达能阻止神经嵴的分化。反过来，通过电穿孔法将有活性的 *Foxd3* 基因异位表达在神经板细胞时，那些神经板细胞就会表达一些具有神经嵴特征的蛋白质（Nieto et al. 1994；Taneyhill et al. 2007；Teng et al. 2008）。
- *Sox10* 基因可能是神经嵴特化的最关键调节物之一。它不仅对神经嵴细胞从神经管的分层有关键作用，对众多神经嵴谱系的分化也很关键（Kelsh 2006；Betancur et al. 2010）。Sox10 蛋白结合很多编码神经嵴效应物的基因的增强子，包括：一些小 G 蛋白，如能使细胞改变形态和迁移的小 G 蛋白酶 Rho（Rho GTPase）；一些细胞表面受体，如受体酪氨酸激酶和内皮肽受体（ENDRB2），使神经嵴细胞能够应答它们环境中的图式化和趋化蛋白；还有一些转录因子，如表达在黑素细胞谱系（形成色素细胞）的小眼畸形相关转录因子（见图 15.6；Simões-Costa and Bronner 2015）。

网络话题 15.1 **诱导的神经嵴细胞** 对控制神经嵴发育的基因调控网络的了解使得研究人员能将人的成纤维细胞重新编程为诱导的神经嵴细胞（iNCC），以研究它们的发育及在疾病中的作用。

科学家讲座 15.1 Marianne Bronner 博士从进化的角度讲述神经嵴发育的基因调控网络。

15.1.4 神经嵴细胞的迁移：上皮性到间充质性以及更多

神经嵴细胞迁移所经历的环境沿前 - 后轴方向存在差异，这使得不同区域的神经嵴细胞经历不同类型的旅程。像交通中的车辆一样，这些细胞必须使用环境中的信息来导航它们的路线，并且它们的行程受周围细胞的影响（图 15.7）。像汽车使用发动机和车轮在道路上移动一样，细胞使用它们的细胞骨架所产生的前伸力来延伸板足，抓住前面的细胞外基质，同时在后面放开制动器。一辆车可以在一个空旷的道路上自由奔驰，或者必须在交通中集体行驶，对相邻车辆的速度和距离产生反应。类似地，神经嵴细胞能够独立迁移，或者以一簇细胞群体的方式运动，对它们与邻近细胞的距离做出反应。像交警、结构障碍和路标指引车辆的交通一样，一些局部黏附信息和一些呈梯度分布的长距离分泌因子引导迁移的细胞通过胚胎中的环境。而且，像司机看不到前方转弯后就能进入停车位那样，迁移的细胞必须以渐进的方式做出决定，从一个转弯处运动到下一个，以到达最终目的地。在你继续阅读神经嵴迁移时，可以考虑一下这个比喻。



图 15.7 神经嵴和轴突迁移与交通导向及车辆行驶的类比（照片为 Alexis Corpuz 版权所有）。

15.1.4.1 分层

被特化后，神经嵴细胞的首个可见的迹象是它们为离开神经管作准备的上皮到间充质转换。神

经嵴细胞失去它们的黏附连接，通过一个称为**分层**（**delamination**）的过程与上皮分离（图 15.8）。神经嵴分层的时间受神经管环境的控制。上皮到间充质转换的触发物可能是骨形态发生蛋白对一些 Wnt 基因的激活。骨形态发生蛋白（由神经管的背部产生；见第 13 章和第 14 章）被脊索和体节产生的头蛋白所阻断。当头蛋白的表达降低时，骨形态发生蛋白就能发挥作用，在神经嵴细胞中激活上皮到间充质转换（Burstyn-Cohen et al. 2004）。

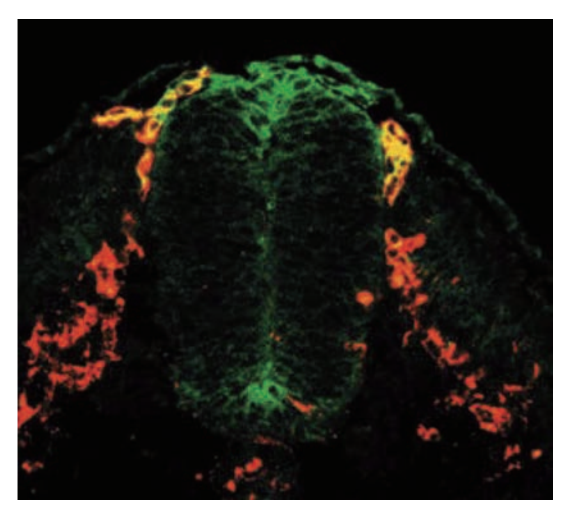


图 15.8　迁移中的神经嵴细胞被 HNK-1 抗体标记成红色，这个抗体识别一个参与神经嵴细胞迁移的细胞表面糖类。RhoB 蛋白（染成绿色）表达在分层的细胞。同时表达 HNK-1 和 RhoB 的细胞呈黄色（来自 Liu and Jessell 1998，由 T. M. Jessell 提供）。

在分层前，神经嵴范围内的不同外胚层区域可以被它们表达的各种细胞黏附分子所识别：表面外胚层表达上皮钙黏素、迁移前神经嵴表达钙黏着蛋白 -6B、神经管表达神经钙黏素（图 15.9）。Wnt 和骨形态发生蛋白信号促使正在分层的迁移前神经嵴表达一些“上皮到间充质转换核心调节因子”（Snail-2、Zeb-2、Foxd3、Twist）。Sox2 表达在神经外胚层细胞（神经板、神经褶、神经管），它的作用是在一定程度上抑制 *Snail* 基因的转录，而在迁移前神经嵴区域的更背部表达的 *Snail* 交叉抑制 *Sox2* 的表达（Duband et al. 2015 综述）。与神经管腹部的图式化一样（见第 14 章），这种交叉转录抑制有助于细化神经管上皮（神经钙黏素）、迁移前神经嵴（钙黏着蛋白 -6B）和表面外胚层（上皮钙黏素）之间的边界（见图 15.9）。

非经典 Wnt 信号在迁移前神经嵴细胞中对小 G 蛋白酶 Rho 的激活有至关重要的作用。这些小 G 蛋白酶行使以下功能：①促进 *Foxd3* 基因和 *Snail* 家族基因的表达；②促使肌动蛋白聚合形成微丝并使这些微丝附着在细胞膜上的局部黏附点，以此建立迁移所需的细胞骨架状态（Hall 1998；De Calisto et al. 2005）。

如果神经嵴细胞彼此紧密连接，它们就不能离开神经管。已经证明 Snail 直接下调钙黏着蛋白 -6B，

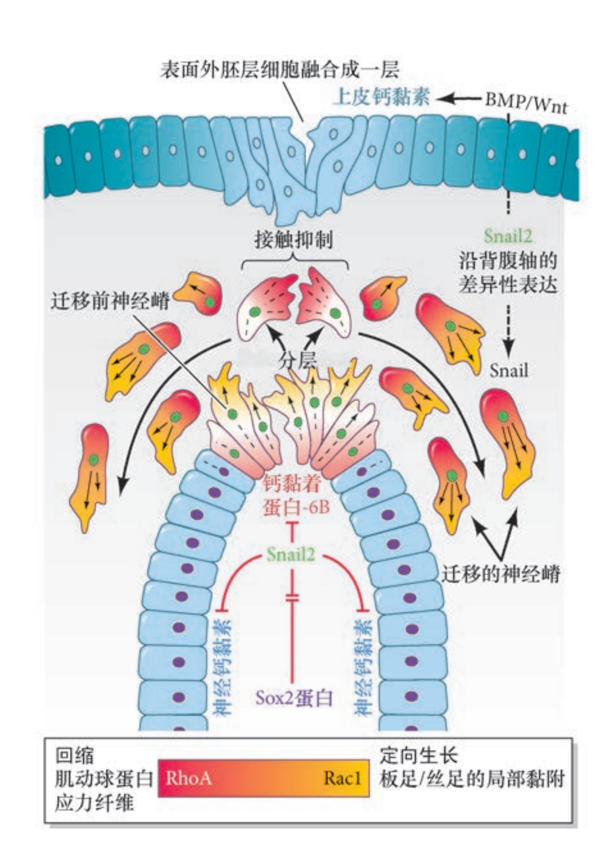


图 15.9　神经嵴分层和迁移的接触抑制。图中显示的神经嵴分层过程发生在神经和表面外胚层已经分离并且两者正在中线融合以分别形成神经管和表皮的时间。骨形态发生蛋白（BMP）和 Wnt 信号特化神经上皮的三个主要区域，这几个区域可被它们表达的独特黏着蛋白所区分：表面外胚层表达上皮钙黏素，神经管表达神经钙黏素，迁移前神经嵴表达钙黏着蛋白 -6B。在迁移前区域，骨形态发生蛋白的水平最高，Wnt 呈居间水平；这种状态可以支持这些细胞中 *Snail-2*（以及 *Zeb-2*）表达的上调。Snail2 蛋白抑制这个区域的神经钙黏素和上皮钙黏素。钙黏着蛋白 -6B 的表达仅在迁移前神经嵴细胞的顶端部分被上调，它的作用是激活 RhoA 和肌动球蛋白的收缩纤维，以产生顶端收缩和起始分层。非经典 Wnt 信号（这里未显示）沿神经嵴细胞的迁移轴向建立 RhoA（红色）和 Rac1（黄色）的极化活性。当神经嵴细胞互相接触时，它们便经历接触抑制，这时，它们将停止运动，转向并向相反的方向迁移。

以及一些使上皮细胞结合在一起的紧密连接蛋白的表达（见图 15.9）。在斑马鱼中，钙黏着蛋白 -6B 仅被过渡性地维持在分层细胞的顶端，这能使 RhoA 组装肌动球蛋白收缩纤维，用于顶端收缩，以及分层和迁移的起始（Clay and Halloran 2014）。迁移后，神经嵴细胞重新表达一些钙黏着蛋白，这在它们聚集形成背根和交感神经节的位置被予以证明（Takeichi 1988；Akitaya and Bronner-Fraser 1992；Coles et al. 2007）。

15.1.4.2 接触抑制的驱动力

神经嵴细胞从神经管背部的推出似乎被同类神经嵴细胞所推动（Abercrombie 1970；Carmona-Fontaine et al. 2008）。这个现象称为**运动的接触抑制**（**contact inhibition of locomotion**），发生在两个迁移的细胞相互接触的情况下。每个细胞的细胞骨架发生解聚变化，终止了沿细胞接触表面的突出活动，使新的突出延伸在接触点之外形成（**图 15.10**；Carmona-Fontaine et al. 2008；Scarpa et al. 2015）。正如你想象的那样，这样的行为能引起细胞分散，其他细胞也呈现这种行为，如脑皮质的 Cajal Retzius 细胞（见第 14 章；Villar-Cerviño et al. 2013）。然而，当神经嵴细胞从神经管背部迁移出去时，只要它们在任何位置互相紧密接触，接触抑制将在细胞的所有接触面阻止突出活动，除了那些位于迁移群体前沿的细胞（Roycroft and Mayor 2016）。这个接触抑制的机制涉及 Wnt 和 RhoA。在神经嵴细胞互相接触（但不是与其他细胞类型）的一侧，非经典 Wnt/ 平面细胞极性（PCP）途径的蛋白质进行组装并激活 RhoA（见图 4.34），而 RhoA 再解聚参与迁移的板足中的细胞骨架（见图 15.9）。因此，Wnt 介导的活性所产生的极化导致接触抑制，使得神经嵴细胞既能作为单个细胞在躯干区域定向迁移，也能作为一个整体运动，后者通常见于颅神经嵴细胞（Mayor and Theveneau 2014）。

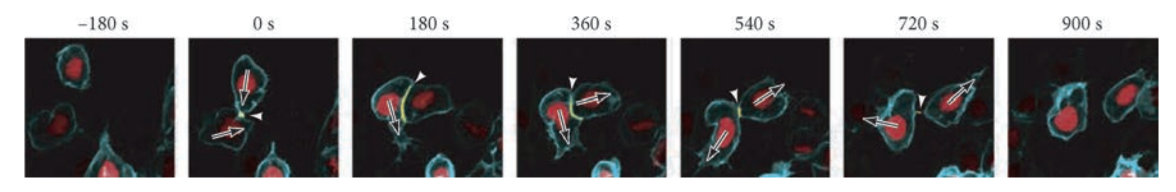


图 15.10 斑马鱼活体胚胎中迁移的神经嵴细胞显示出运动的接触抑制。细胞核表达 mCherry（红色）而细胞膜表达绿色荧光蛋白（蓝色）的神经嵴细胞的时间序列。细胞膜发生接触后（黄色；箭头），两个细胞在接触位置之外延伸突出。箭指示细胞运动的方向（来自 Scarpa et al. 2015）。

15.1.4.3 集体迁移

作为很多辆车的一个部分前往类似的地点与单独在空旷的道路上旅行会有不同的经历。作为团体的一部分需要在旅行中互相配合并保持步调一致。胚胎中一个类似图式的细胞迁移（**图 15.11**）被称为**集体迁移**（**collective migration**）。

上皮和间充质细胞都能进行集体迁移，位于前沿的细胞引导和带动后面一簇细胞的运动（Scarpa and Mayor 2016）。在神经嵴细胞的迁移中，颅神经嵴细胞通常经历集体迁移，并且在体外培养时也一样（Alfandari et al. 2003；Theveneau et al. 2010）。这种能力说明外部因素，如趋化性，对集体迁移并不是必需的，而细胞的内在特性足以维持细胞簇的完整性和定向运动。集体迁移的模拟建模预测，细胞之间的运动接触抑制和相互吸引对有效的集体迁移都是必要的，并且体内和体外的结果都是一致的（Carmona-Fontaine et al. 2011；Woods et al. 2014）。的确，非洲爪蛙的颅神经嵴细胞不仅有 Wnt/PCP 介导的 RhoA 作为运动接触抑制的机制，它们也分泌补体 -3a（C3a），吸引表达补体 -3a 受体的神经嵴细胞。颅神经嵴细胞也表达低水平的神经钙黏素（见图 15.11）。用实验的方法升高神经钙黏素导致神经嵴细胞形成一个更紧密黏附的群体，不能以同样的迁移速度侵入到一些空隙中，这说明适宜水平的神经钙黏素对这些细胞的正常集体迁移和组织侵入是必要的（Theveneau et al. 2010；Kuriyama et al. 2014）。

拓展性问题

多种不同的胚胎祖细胞，例如，果蝇卵巢的边缘细胞和斑马鱼的侧线原基，都表现出集体迁移，但成体中是否有任何细胞类型也呈现出类似的集体迁移行为，并“入侵”组织？如果有，这些细胞是否也与神经嵴细胞一样经历上皮到间充质转换？

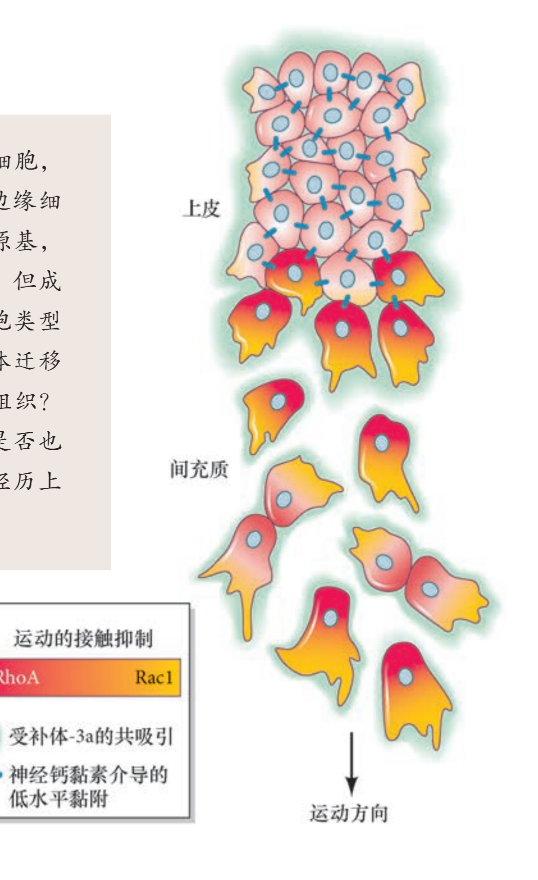


图 15.11　神经嵴细胞集体迁移的模型。一些神经嵴细胞能作为一大群细胞共同迁移。这种“集体迁移”需要一定程度的细胞与细胞之间的黏附，而这个黏附受低水平的神经钙黏素介导（蓝色受体）。此外，共同迁移中的神经嵴细胞也分泌一个吸引信号（补体 -3a，C3a），以保证神经嵴细胞继续相向生长。由于前沿细胞之间的持续接触抑制，这组细胞的迁移图式具有一个集体方向。接触抑制受控于小 G 蛋白酶 Rho 的差异性激活（从红色到黄色）（来自 Scarpa and Mayor 2016）。

观察发育 15.1　这个延时视频显示在神经嵴细胞中对神经钙黏素操控后集体迁移的变化。

在早期特化和分层之后，神经嵴细胞沿不同的途径迁移到它们特定的位置进行分化。这些细胞如何“知道”要去哪里？迁移的基质在不同的途径是否有差异？环境中有什么“交通标志”能为神经嵴细胞迁移到它们的目标组织提供导向信息？接下来我们将着重介绍神经嵴细胞迁移到胚胎的躯干部、头部和心脏区域的导向机制。

15.1.5　躯干神经嵴细胞的迁移途径

在躯干的轴向水平，从神经管迁移出去的神经嵴细胞采用两种主要的途径（图 15.12）。很多早期迁移的细胞沿着一个**腹部途径**（**ventral pathway**）远离神经管。命运图谱实验显示，这些细胞变成感觉（背根）和自主神经元、肾上腺髓质细胞，以及施万细胞和其他胶质细胞（Weston 1963；Le Douarin and Teillet 1974）。在鸟类和哺乳类（但不是鱼类和两栖类），这些细胞从生骨节[5]的前部（但不是后部）向腹部迁移（Rickmann et al. 1985；Bronner-Fraser 1986；Loring and Erickson 1987；Teillet et al. 1987）。

第二个途径是**背外侧途径**（**dorsolateral pathway**），通过这个途径迁移出来的躯干神经嵴细胞变成黑素细胞，即产生黑素的色素细胞。这些细胞在表皮和真皮之间迁移，通过基底膜（它们自身也能产生）的细孔进入外胚层。一旦进入外胚层，它们便聚集于皮肤和毛囊（Mayer 1973；Erickson et al. 1992）。Mary Rawles（1948）的一系列实验证明了背外侧途径，她将色素品系鸡的神经管和神经嵴移植到白化鸡胚胎的神经管后，观察到白色的翅上具有带色素的羽毛（见图 1.15C）。

[5] 生骨节是体节中产生脊椎软骨的部分。在鱼类神经嵴细胞的迁移中，生骨节并不是很重要；而生肌节似乎引导神经嵴细胞向腹部迁移（Morin-Kensicki and Eisen 1997）。

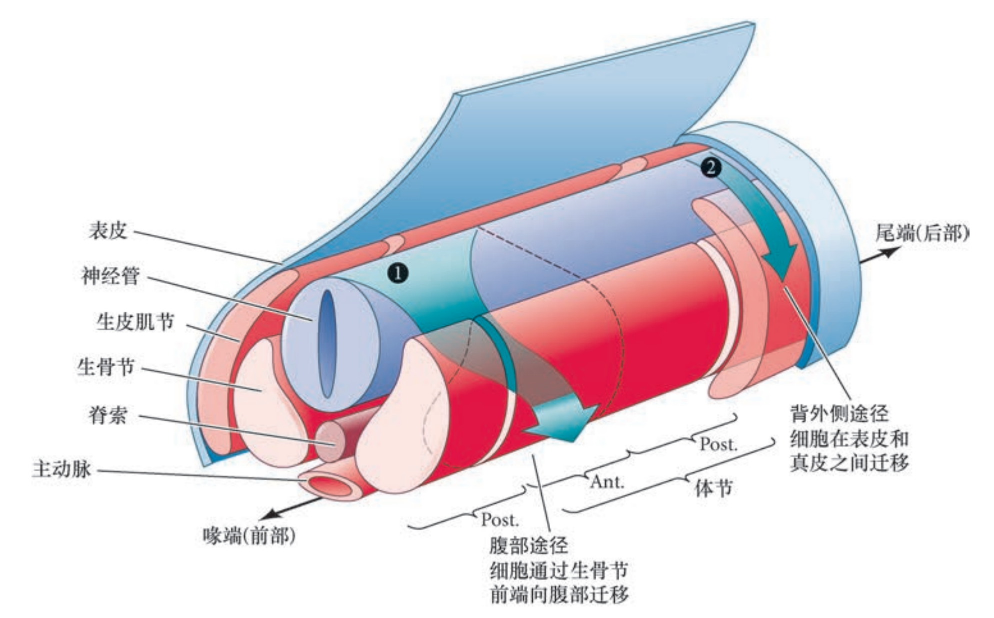


图 15.12 鸡胚胎躯干神经嵴细胞迁移的示意图。选择腹部途径的细胞①通过生骨节（形成脊椎软骨的体节部分）的前部迁移。那些最初处在一个生骨节后部对面位置的细胞沿神经管迁移到一个前部区域。这些细胞参与形成交感和副交感神经节，以及肾上腺髓质细胞和背根神经节。稍后，其他躯干神经嵴细胞在体节的所有轴向位置进入背外侧途径②。这些细胞在外胚层下部迁移，变成产生黑素的色素细胞。这些迁移的途径仅显示在胚胎的一侧。Ant.：前端；Post.：后端。

通过将鹌鹑的神经管或神经褶移植到鸡胚胎中，Teillet 及其同事（1987）用遗传和免疫的方法标记了神经嵴细胞。免疫方法使用的抗体能识别和标记两个物种的神经嵴细胞；遗传标记物使得研究人员能够区分鹌鹑和鸡的细胞（见图 1.15A）。这些结果显示，最初位于一个体节后部对侧的神经嵴细胞沿神经管向前部或后部迁移，然后进入自身或一个相邻体节的前部。这些细胞与最初位于体节前部对侧的神经嵴细胞汇合，形成一些相同的结构。因此，每个背根神经节含有在三个体节附近形成的神经嵴细胞群体：一个来自位于体节前部对侧的神经嵴细胞，另外两个分别来源于自身体节和邻近体节后部对侧的神经嵴区域。

15.1.5.1 腹部途径

背外侧相对于腹部躯干途径之间的选择在神经嵴细胞被特化之后不久由神经管的背部所决定（Harris and Erickson 2007）。最早迁移的细胞被硫酸软骨素蛋白聚糖、肝配蛋白、Slit 蛋白及其他多个分子所抑制。因为它们被强烈抑制，这些细胞只能改变方向并向腹部迁移，在腹部的位置产生神经元和周围神经系统的胶质细胞。

下一个选择关系到这些向腹部迁移的细胞是在体节之间迁移（形成主动脉的交感神经节），还是经过体节迁移（Schwarz et al. 2009）。在小鼠胚胎中，最初形成的几个神经嵴细胞在体节之间通过，但这个途径很快就被 **semaphorin-3F** 阻断，这是一个排斥神经嵴细胞的蛋白质，因此，多数向腹部运动的细胞只能经过体节迁移。这些细胞经过每个体节的前部迁移，并与一些细胞外基质的蛋白质结合，如纤连蛋白和层粘连蛋白，这些蛋白质对迁移起容许性作用（Newgreen and Gooday 1985；Newgreen et al. 1986）。

生骨节的细胞外基质在每个体节的前部和后部存在差异，只有生骨节前部的细胞外基质能使神经嵴细胞迁移（**图 15.13A**）。像阻止神经嵴细胞向背外侧迁移的细胞外基质一样，每个生骨节后部的细胞外基质含有一些活跃排斥神经嵴细胞的蛋白质（**图 15.13B**）。除 semaphorin-3F 以外，这些蛋白质还包括一些**肝配蛋白**（**ephrin**）。表达在生骨节后部的肝配蛋白在神经嵴细胞上被它的受体（Eph）所识别。类似地，表达在生骨节后部细胞上的 semaphorin-3F 在迁移的神经嵴细胞上被它的受体 neuropilin-2 所识别。如果将肝配蛋白间隔地加在细胞膜蛋白形成的一些条纹上，神经嵴细胞在这样的培养皿上将离开含有肝配蛋

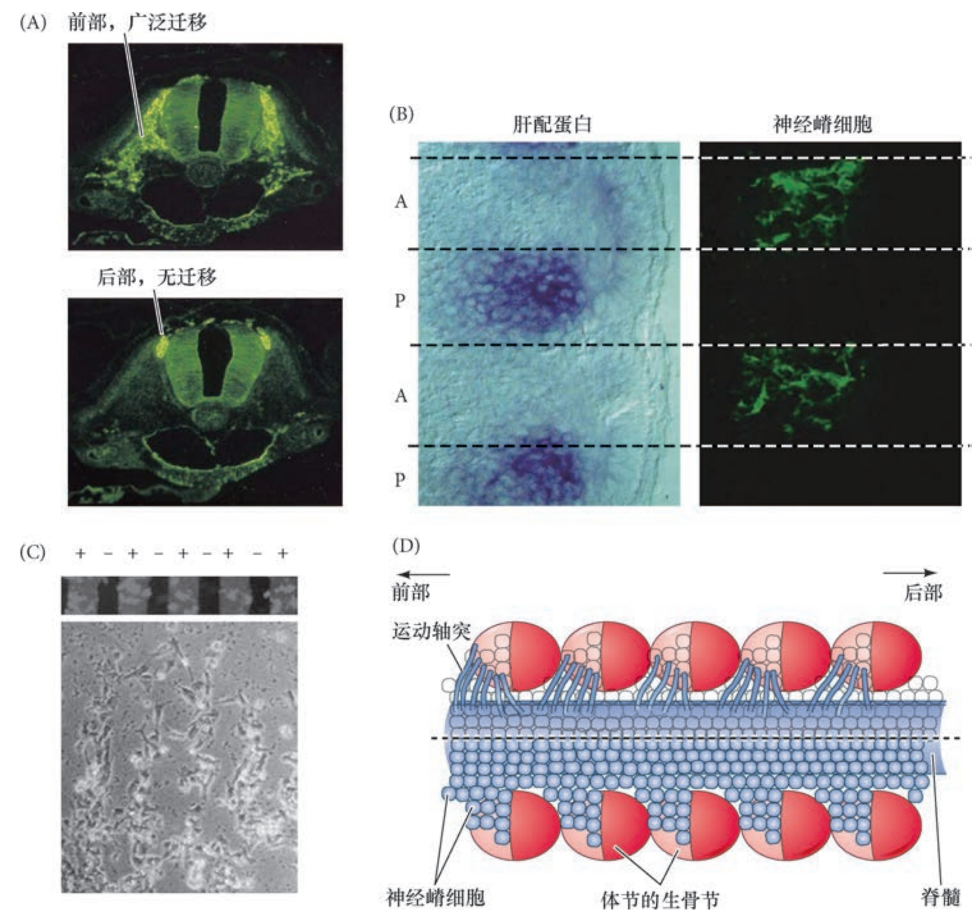


图 15.13　生骨节中的肝配蛋白对神经嵴细胞和运动神经元的分节限制。(A) 这些区域的横切面显示经过生骨节前部的广泛迁移（上图），而不经过后部迁移（下图）。HNK-1 的抗体被染成绿色。(B) 生骨节的肝配蛋白区域（左侧的深蓝染色）与神经嵴细胞的出现（右侧的绿色 HNK-1 染色）呈负相关。(C) 神经嵴细胞在具有交替肝配蛋白条纹的纤连蛋白基质上结合没有肝配蛋白的区域。(D) 综合示意图显示脊髓神经嵴细胞和运动神经元经过无肝配蛋白的生骨节前部区域迁移。为了清楚起见，神经嵴细胞和运动神经元分别显示在脊髓的一侧 (A 图来自 Bronner-Fraser 1986，由作者提供；B 图来自 Krull et al. 1997；C 图参考 O'Leary and Wilkinson 1999)。

白的条纹，沿着没有肝配蛋白的条纹运动（图 15.13C；Krull et al. 1997；Wang and Anderson 1997；Davy and Soriano 2007)。类似地，神经嵴细胞不能在含有 semaphorin-3F 蛋白的基质上迁移；缺失 semaphorin-3F 或 neuropilin-2 的突变体小鼠在整个躯干部都表现出严重异常的迁移，以至于神经嵴细胞经过体节的前半部分和后半部分迁移。这种神经嵴细胞的迁移图式产生了周围神经系统的整体分节特征，这体现在背根神经节和其他一些神经嵴来源的结构的定位（图 15.13D)。

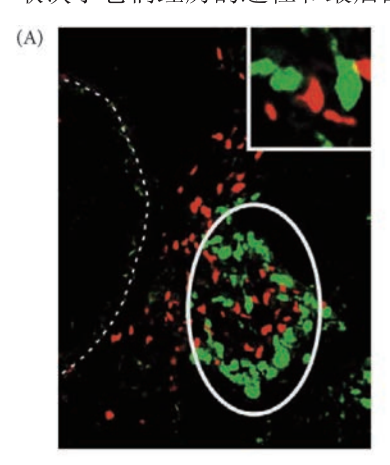
腹部途径中的细胞分化　根据它们的位置不同，进入体节的神经嵴细胞分化成两种主要类型的神经元。在生骨节中分化的细胞产生背根神经节。这些神经嵴细胞含有感觉神经元，将触觉、痛觉和温度信息传回中枢神经系统[6]。在它们向腹部迁移时，这些神经嵴细胞有可能产生表达不同受体的子代。表达神经营养因子受体和 Wnt 受体的迁移细胞能应答这些受体的配体（由神经管背部产生），在紧邻神经管的位置分化成神经胶质和背根神经节的神经元 (Weston 1963)。在背根神经节内，表达更多 Notch 的那些细胞变成神经胶质，而表达更多 Delta (Notch 的配体）的那些细胞变成神经元 (Wakamatsu et al. 2000；Harris and Erickson 2007)。

[6] 这些感觉神经元是传入神经元，因为它们将信息从感觉细胞传输到中枢神经系统（即脑和脊髓）。传出神经元将信息从中枢神经系统传出；它们包括神经管腹部区域产生的运动神经元（如第 14 章所述）。

没有 Wnt 受体和神经营养因子受体的神经嵴细胞继续迁移。它们经过生骨节的前部并继续向腹部迁移，直到抵达背主动脉（但在进入肠之前停止迁移），然后变成交感神经节（Vogel and Weston 1990）。在躯干水平，它们参与形成自主神经系统中分泌肾上腺素的交感（肾上腺素能，“逃跑或反击”）神经元及肾上腺髓质（图 15.14A）。在心脏和迷走神经轴向的水平，它们变成分泌乙酰胆碱的副交感（胆碱能，“休息和消化”）神经元，包括肠道的肠神经元（图 15.14B）。这些细胞谱系可能分别来自一个局限性多能的神经嵴祖细胞，而且向这三种谱系分化的命运限制可能发生得相对较晚（Sieber-Blum 1989）。来自主动脉的骨形态发生蛋白似乎能将神经嵴细胞转变成交感和肾上腺谱系，而来自肾上腺皮质的糖皮质激素能阻断神经元的形成，引导附近的神经嵴细胞变成肾上腺髓质细胞（Unsicker et al. 1978；Doupe et al. 1985；Anderson and Axel 1986；Vogel and Weston 1990）。注定变成肾上腺髓质中分泌肾上腺素的那些细胞维持它们对骨形态发生蛋白的应答能力，向分泌骨形态发生蛋白 -4（BMP4）的肾上腺皮质细胞迁移。其他细胞变成环围主动脉的交感神经节。

此外，当鸡胚胎的迷走和胸神经嵴被相互移植时，之前的胸神经嵴产生副交感神经节的胆碱能神经元，而之前的迷走神经嵴形成交感神经节的肾上腺素能神经元（Le Douarin et al. 1975）。Kahn 及其同事（1980）发现，来自胸和迷走神经嵴区域的迁移前神经嵴细胞含有合成乙酰胆碱和去甲肾上腺素的酶。因此，有很好的证据显示，尽管一些神经嵴细胞在形成之后就很快被定型，但是向腹部迁移的神经嵴细胞的分化取决于它们经历的途径和最后的位置。

(A)



(B)

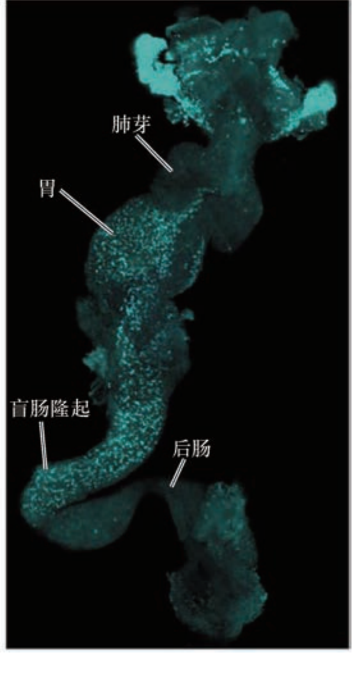


图 15.14 进入肠道和肾上腺的神经嵴细胞。（A）迁移中的神经嵴细胞（用 Sox8 转录因子标记成红色）向肾上腺皮质细胞（用类固醇生成因子 -1 染成绿色）迁移。肾上腺的范围被圈出；背主动脉的边缘用虚线显示。（B）神经嵴细胞形成肠蠕动所需的肠（肠道）神经节。一个 11.5 天的小鼠肠的激光共聚焦图（放大 200 倍），显示神经嵴细胞（用 Phox2b 染色）通过前肠迁移并进入肠的盲肠隆起（A 图来自 Reiprich et al. 2008；B 图来自 Corpening et al. 2008）。

向肠迁移 哪些神经嵴细胞移居肠道而哪些不移居到那里？这种区分取决于一些细胞外基质成分和可溶性旁分泌因子。来自迷走和骶神经嵴区域的神经嵴细胞形成肠管的肠神经节并控制肠的蠕动。来自迷走神经嵴的细胞在越过体节之后进入前肠并分散到大部分消化管，而骶神经嵴细胞移居到后肠（见图 15.14B）。各种抑制性细胞外基质蛋白（包括一些 Slit 蛋白）能阻断躯干神经嵴细胞进一步向腹部迁移到肠道，但这些抑制性蛋白质不表达在迷走和骶神经嵴周围，使得这些神经嵴细胞能够到达肠组织。一旦到达发育中的肠道附近，这些神经嵴细胞被**胶质细胞源性神经营养因子**（**glial-derived neurotrophic factor，GDNF**）——肠间充质产生的一个旁分泌因子，吸引至消化管（Young et al. 2001；Natarajan et al. 2002）。来自肠间充质的胶质细胞源性神经营养因子在神经嵴细胞上结合它的受体 Ret。迷走神经嵴细胞比骶神经嵴有更多的 Ret 膜受体，这使迷走神经嵴细胞具有更强的侵袭性（Delalande et al. 2008）。

胶质细胞源性神经营养因子激活细胞分裂、引导细胞向肠中胚层迁移、诱导神经分化（Mwizerwa et

al. 2011)。如果小鼠或人缺失胶质细胞源性神经营养因子或 Ret，幼鼠或儿童将会患有先天性无神经节巨结肠病 (Hirschsprung disease)，这是一种肠道不能正常排空固体废物的综合征。在人类，这种情况的发生经常是由于迷走神经嵴细胞不能完成它们在后肠的集落形成，使一段小肠没有蠕动能力。将神经嵴细胞迁移的实验分析与数学建模结合起来，Landman 及其同事 (2007) 模拟了迷走神经嵴细胞的迁移并解释了导致先天性无神经节巨结肠病的遗传缺陷。在这个模型中，迷走神经嵴细胞一旦进入肠的前部就不能进行正常的定向迁移。相反地，它们进行增殖，直到那个肠区域的所有微环境都被饱和，而后，迁移的前沿向后运动 (Simpson et al. 2007)。同时，肠自身也继续延伸。集落的完成与否取决于迷走神经嵴细胞进入前肠的初始数量，以及细胞运动相对于肠道生长的比率。如果仅局限于物理观察，这些结果并非显而易见，所以，上述研究显示了实验手段与数学方法相结合对研究发育的重要性。

肠神经嵴细胞进行最长的迁移旅途，这是因为它们一直在追赶一个运动的目标，即生长过程中的肠最尾端或最远端。肠神经嵴向尾部的迁移被比作具有一个前导（尾部）细胞“峰”的波 (Druckenbrod and Epstein 2007)。随着这个波沿发育的肠向下推移，神经嵴细胞必须在整个组织中均匀展开，以保证完全的神经支配和行使全部功能。肠神经嵴细胞被置于肠道的过程称为“定向散布” (Theveneau and Mayor 2012)，但目前对于介导这个过程的一些细胞行为还知之甚少。肠神经嵴细胞并不成簇地集体迁移，而是以一些长链的形式迁移 (Corpening et al. 2011；Zhang et al. 2012)。而且，随着波的推移，肠神经嵴细胞似乎以随机的方向迁移，并且在所有轴向上探索一些区域；但是，整体散布却偏向于发生在后部的方向（**图 15.15A**；Young et al. 2014)。肠神经嵴细胞在这个旅程中向神经元分化，胞体（细胞体）和投射的轴突在肠的发育过程中仍然处于很活跃的运动状态。有意思的是，肠神

拓展性问题

肠神经嵴细胞处在正确的时间和位置来影响寻径神经元的轨迹。这种情况的确存在吗？这些前导神经嵴细胞是否表达一些膜受体或分泌一些扩散性蛋白质以指令生长的神经元向神经嵴细胞的方向延伸轴突？如果肠神经嵴细胞为轴突引导道路，那么是什么将神经嵴细胞导向至肠的尾端，同时也建立了一个均匀分散的神经元排列？

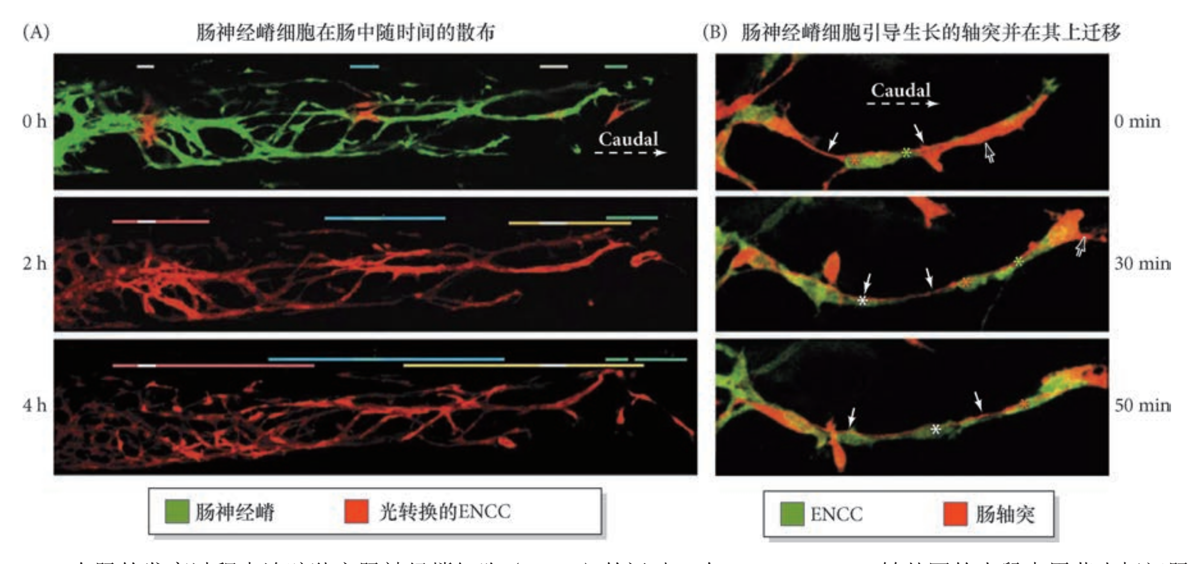


图 15.15　在肠的发育过程中追踪独立肠神经嵴细胞 (ENCC) 的运动。在 *Ednrb-hKikGR* 转基因的小鼠中用荧光标记肠神经嵴细胞（绿色）。KikGR 是一个光转换蛋白，在紫外线的照射下能改变发射谱，使原来发出的绿光变成红色。(A) 在发育的肠中用光转换四个独立的位点（红色；上部的条带）。移动中的肠神经嵴细胞波的最尾端 (Caudal) 位于 0 时间点的最右侧。肠神经嵴细胞的早期链在整个肠中稀疏地扩展（绿色；0 h)。光转换的细胞活跃迁移并不断地向后端散布 (2 h 和 4 h；上部条带的宽度)。(B) 肠神经嵴细胞（绿色）位于分化过程中的轴突生长端（红色；箭所示）。肠神经嵴细胞也使用神经突（轴突）作为迁移的基质（注意星号随时间的运动；不同颜色的星号代表不同的细胞）（参考 Young et al. 2014)。

经嵴细胞能够一直沿着生长中的轴突及其前端进行迁移（图 15.15B）。这些发现说明迁移的肠神经嵴细胞和寻径的肠神经元之间存在一个互益的关系，以至于神经嵴细胞能将神经轴突作为迁移的基质，并且神经元轴突也能跟随“先锋”神经嵴细胞。

> **观察发育 15.2**　第一个视频展示肠神经嵴细胞散布的特征。第二个视频显示独立的肠神经嵴细胞在发育的肠中沿活跃生长的轴突进行迁移的一个特写。

15.1.5.2　背外侧途径

在脊椎动物中，除了色素视网膜以外的所有色素细胞都来自神经嵴。沿背外侧途径迁移的细胞似乎早就被特化成黑素细胞，即色素祖细胞，并且它们沿着背外侧途径被一些趋化因子和基质糖蛋白所引导（图 15.16）。在鸡中（但不是在小鼠），首先迁移的神经嵴细胞进入腹部途径，而后期迁移的细胞进入背外侧途径（见 Harris and Erickson 2007）。这些后期迁移的细胞仍然留在神经管上部，处在一个常被称为“集结区”的位置，正是这些细胞将被特化成黑素细胞（Weston and Butler 1966；Tosney 2004）。神经胶质 / 神经前体和成黑素细胞前体之间的转换似乎受控于 Foxd3 转录因子。如果有 Foxd3，它就会抑制**小眼畸形相关转录因子（microphthalmia-associated transcription factor，MITF）**[7] 的基因的表达，这是一个对成黑素细胞的特化和色素的形成所必需的转录因子（见图 15.6）。如果 Foxd3 的表达被下调，MITF 便能表达，细胞将变为黑素细胞。MITF 参与三个信号转导级联反应。第一个级联反应激活那些影响色素产生的基因；第二个级联反应使这些神经嵴细胞沿背外侧途径迁移到皮肤；第三个级联反应阻止迁移的细胞发生细胞凋亡（Kos et al. 2001；McGill et al. 2002；Thomas and Erickson 2009）。在 *MITF* 杂合突变体的人中，只有少数色素细胞能够到达身体的中部，这导致了毛发上出现低色素（白色）的条纹。在一些动物，包括一些品种的狗和马，*Mitf* 的杂合突变引起成黑素细胞的随机死亡（图 15.17）。

被特化后，位于“集结区”的成黑素细胞上调肝配蛋白受体（EphB2）和内皮肽受体（EDNRB2）。这样就会使成黑素细胞沿着含有肝配蛋白和内皮肽 -3 的细胞外基质迁移（见图 15.16B；Harris et al. 2008）。的确，黑素谱系细胞恰好在那些排斥神经嵴细胞的神经胶质 / 神经谱系的相同分子上进行迁移。沿背外侧迁移途径表达的肝配蛋白刺激黑素细胞前体的迁移。肝配蛋白在神经嵴细胞膜上激活自身的受体（EphB2），并且肝配蛋白信号可能对促进神经嵴细胞迁移到黑色素分化的位置有关键作用。在后期迁移的神经嵴细胞中，干扰肝配蛋白信号能阻止它们向背外侧迁移（Santiago and Erickson 2002；Harris et al. 2008）。一个有意思的最新发现是，某些呈现白色羽毛的鸡品种是内皮肽受体 B2 基因自然发生突变的结果（Kinoshita et al. 2014）。

(A)



(B)

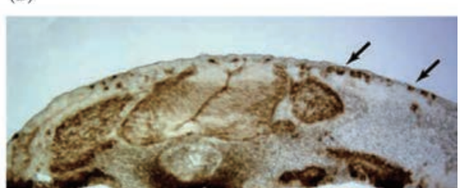


图 15.16　神经嵴细胞通过皮肤在背外侧途径中迁移。(A) 第 11 天小鼠胚胎的整封原位杂交，神经嵴来源的黑素细胞被染色（紫色）。(B) 第 18 期鸡胚胎通过躯干的横切面。成黑素细胞（箭所示）通过真皮从神经嵴区域向周围迁移（A 图来自 Baxter and Pavan 2003；B 图来自 Santiago and Erickson 2002，由 C. Erickson 提供）。

---

[7] MITF 代表小眼畸形（microphthalmia）相关转录因子，这个命名是因为该基因的突变在小鼠中产生小眼（小眼畸形）。我们在这一章将会看到，MITF 有广泛的影响。

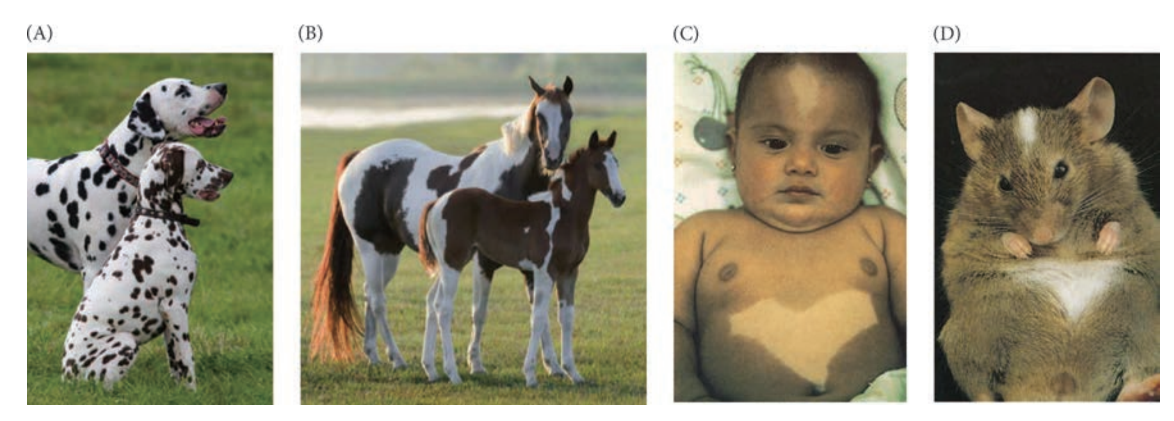


图 15.17　不同的突变引起成黑素细胞的可变性迁移。(A，B) 在多种动物中，成黑素细胞的随机死亡产生斑点样的色素沉着。迁移的成黑素细胞在内耳中诱导血管形成，没有这些血管，耳蜗便会退化，动物的这个耳就不能听到声音。这经常发生在 *Mitf* 杂合突变体的斑点狗 (A)，以及可能是内皮肽受体 B 杂合突变体的美国油漆马 (B)。(C) 人类儿童的一种斑驳病。色素在身体的一些区域不能形成，这是因为 *KIT* 基因出现了一个突变。Kit 蛋白对神经嵴细胞、生殖细胞前体和血细胞前体的增殖及迁移有关键作用。(D) 小鼠中也有 *Kit* 基因的突变，这为研究斑驳病和成黑素细胞的迁移提供了重要的模型 (A 图为 Robert Pickett/Getty Images 版权所有；B 图为 M. J. Barrett/Alamy 版权所有；C 图和 D 图由 R. A. Fleischman 提供)。

在哺乳动物中 (但不是在鸡中)，Kit 受体蛋白对定型的成黑素细胞在背外侧途径的迁移有关键作用。这个蛋白质表达在那些也表达 MITF 的小鼠神经嵴细胞，也就是预定成黑素细胞。Kit 蛋白结合真皮细胞表达的**干细胞因子** (**stem cell factor，SCF**)。与干细胞因子结合后，Kit 蛋白在成黑素细胞前体中阻止细胞凋亡并刺激细胞分裂。如果小鼠或人不能产生足够的 Kit 蛋白，神经嵴细胞就不能充分增殖以覆盖整个皮肤 (见图 15.17C，D；Spritz et al. 1992)。而且，干细胞因子对背外侧迁移也有关键作用。如果用实验的方法使一些通常不表达干细胞因子 (通常也没有黑素细胞) 的组织 (如颊上皮或足垫) 分泌这个蛋白质，神经嵴细胞将进入那些区域并变为黑色素细胞 (Kunisada et al. 1998；Wilson et al. 2004)。

因此，躯干神经嵴细胞通过以下方式完成分化：①一些自主因子 (如区分躯干和颅神经嵴细胞的同源异形基因，或将细胞定型为黑素细胞谱系的 MITF)；②细胞外环境的一些特定条件 (如将邻近细胞诱导成肾上腺髓质细胞的肾上腺皮质)；③上述两种方式的结合 (例如，经过生骨节迁移的细胞根据它们的受体类型来应答 Wnt 信号)。单个神经嵴细胞的命运受它的初始位置 (沿神经管的前 - 后轴)，以及它的迁移途径所决定。

科学家讲座 15.2　Melissa Harris 和 Carol Erickson 讲述肝配蛋白受体 B2 / 内皮肽受体 B2 及背外侧途径的迁移。

15.1.6　颅神经嵴

头部 (包括面部和颅骨) 是脊椎动物躯体在解剖学上最为复杂的部分 (Northcutt and Gans 1983；Wilkie and Morriss-Kay 2001)。头部在很大程度上是颅神经嵴细胞的产物，而颌、牙齿和面部软骨的进化是基于这些细胞的位置变化 (见第 20 章)。

像躯干神经嵴一样，颅神经嵴能形成色素细胞、胶质细胞和周围神经元。但除此之外，它还能产生骨、软骨和结缔组织。颅神经嵴在不同的命运定型时期是一个混合的细胞群体，其中大约 10% 由局限性多能干细胞组成。这些细胞能分化形成神经元、神经胶质、黑素细胞、肌细胞、软骨和骨 (Calloni et al. 2009)。在小鼠和人类，颅神经嵴细胞在神经褶还没有融合时就从那里开始迁移 (Nichols 1981；Betters et al. 2010)。这些细胞后续的迁移受其下部后脑的分节所引导。如我们在第 13 章描述的那样，后脑在前—

后轴方向分节形成一些称为菱脑节的区室。位于第 8 菱脑节前部区域的神经嵴细胞向腹部迁移，进入咽弓，以及形成面部的额鼻突（图 15.18）。这些神经嵴细胞的最终目的地决定了它们的最后命运（表 15.2）。

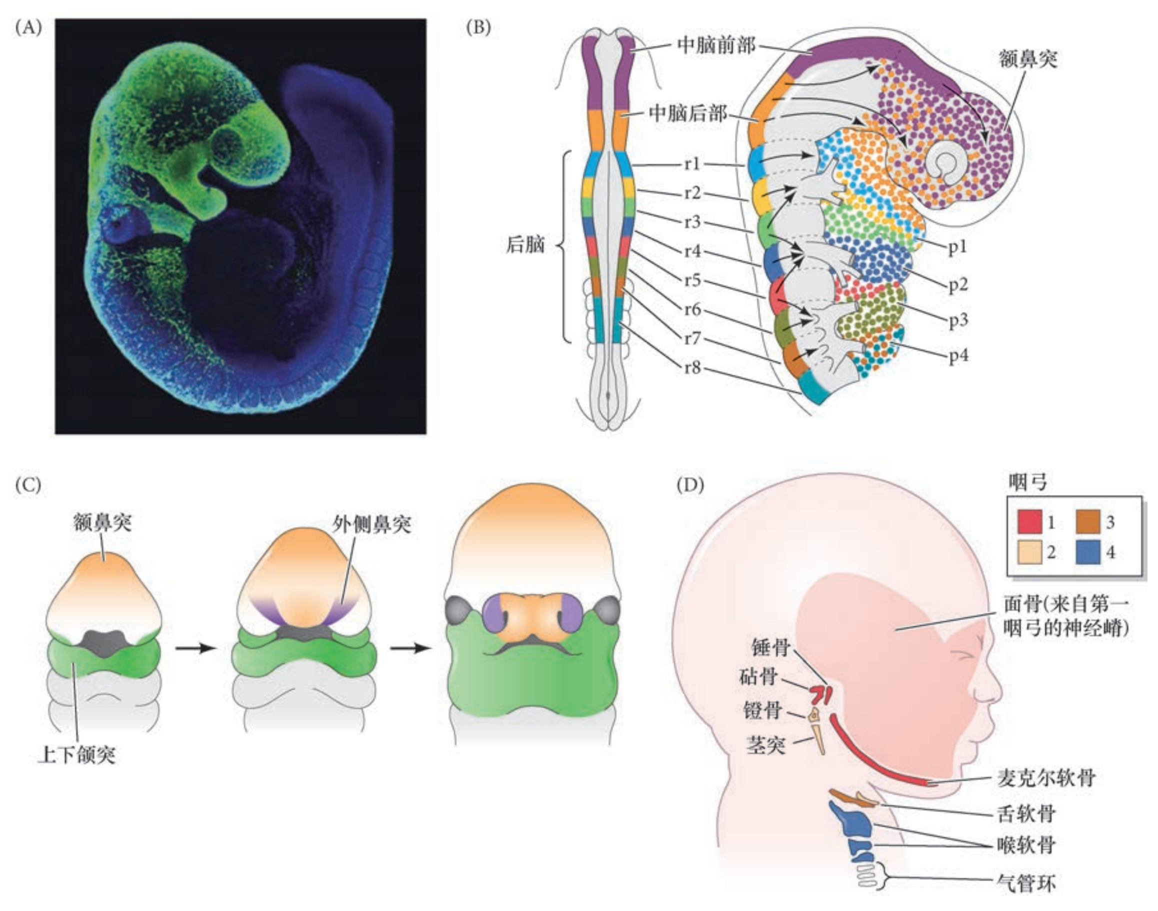


图 15.18 哺乳动物头部颅神经嵴细胞的迁移。(A) 在一个 9.5 天的小鼠胚胎中绿色荧光蛋白标记的神经嵴细胞的迁移，着重显示这些细胞在咽弓和额鼻突中的集落形成。(B) 从颅神经嵴到咽弓 (p1 ～ p4) 和额鼻突的迁移途径。(C) 颅神经嵴的持续迁移产生人的面部。额鼻突参与形成额、鼻、上唇的人中（唇和鼻之间的区域）、初发鄂。外侧鼻突产生鼻的两侧。上下颌突形成下颌、大部分上颌及面部的中下区域。(D) 神经嵴来源的间充质细胞所形成的人类面部结构。咽弓的软骨成分用颜色显示，深粉红色区域代表颅神经嵴前部形成的面部骨骼。r1 ～ r8 指菱脑节 1 ～ 8 (A 图由 P. Trainor 和 A. Barlow 提供; B 图参考 Le Douarin 2004；C 图参考 Helms et al. 2005；D 图参考 Carlson 1999)。

表 15.2 人类咽弓的一些衍生物

咽弓	骨骼元件（神经嵴和中胚层）	动脉弓，动脉（中胚层）	肌肉（中胚层）	颅神经（神经管）
1	砧骨和锤骨（来自神经嵴）；下颌骨、上颌骨和颞骨区（来自神经嵴）	颈动脉的上颌支（通往耳、鼻和颌）	颌肌；口底板；耳肌和软鄂	三叉神经 (V) 的上颌和下颌段
2	中耳的镫骨；颞骨的茎突；颈部舌骨的一部分（全部来自神经嵴软骨）	通往耳区的动脉：颈鼓动脉（成体）；镫骨动脉（胚胎）	面部表情肌；颌和颈上肌	面神经 (VII)
3	舌骨下缘和大角（来自神经嵴）	颈总动脉；颈内动脉根	茎突咽肌（用于提升咽）	舌咽神经 (IX)
4	喉软骨（来自侧板中胚层）	主动脉弓；右锁骨下动脉；肺动脉初始口	咽锁肌和声带	迷走神经上喉支 (X)
6[a]	喉软骨（来自侧板中胚层）	动脉导管；定型肺动脉根	喉内附肌	迷走神经喉返支 (X)

来源：参考 Larsen 1993。
[a] 人的第五咽弓退化。

颅神经嵴通过三种主要途径进行迁移。

1. 来自中脑和后脑的第 1 和第 2 菱脑节的神经嵴细胞迁移到第一咽弓（下颌弓），形成颌骨，以及中耳的砧骨和锤骨。这些细胞也将分化成三叉神经节的神经元，即支配牙齿和颌的颅神经，它们还参与形成支配眼睫状肌的睫状神经节。这些神经嵴细胞也被扩展的表皮拉动，形成**额鼻突**（**frontonasal process**），是变成额、鼻的中部和初发鄂的成骨区域。因此，颅神经嵴产生大部分面部骨骼（见图 15.18B，C；Le Douarin and Kalcheim 1999；Wada et al. 2011）。
2. 来自第 4 菱脑节的神经嵴细胞集落在第二咽弓形成颈部舌软骨的上部分及中耳的镫骨（见图 15.18B，D）。这些细胞也参与形成面神经的神经元。舌软骨最终骨化以在颈部提供喉肌和舌肌附着的骨。
3. 来自第 6 到第 8 菱脑节的神经嵴细胞迁移到第三和第四咽弓及咽囊，形成舌软骨的下部分，也参与形成胸腺、甲状旁腺和甲状腺（见图 15.18B；Serbedzija et al. 1992；Creuzet et al. 2005）。这些神经嵴细胞也进入发育的心脏，帮助构建流出道（也就是主动脉和肺动脉）。如果将神经嵴从这些区域去除，上述结构就不能形成（Bockman and Kirby 1984）。一部分细胞向后部迁移到锁骨，在用于附着一些颈部肌肉的位置进行分化（McGonnell et al. 2001）。

15.1.7　“追逐和逃离”模型

由于颅神经嵴细胞在胚胎前部产生很多种细胞类型，人们将研究的重点集中在阐明颅神经嵴在这个区域迁移的分子和细胞调控机制。我们可以回顾一下，颅神经嵴细胞流通过运动的接触抑制、共吸引和低水平的黏附这些自主机制进行集体迁移（见图 15.11）。但是每个细胞流如何独立地集体迁移到正确的方向？颅神经嵴的三个细胞流通过细胞与它们的环境及细胞之间的相互作用而被维持在一起。在鸡的后脑中观察第 3 和第 5 菱脑节产生的迁移图式揭示，这些细胞不向外侧迁移，而是与处在这些奇数菱脑节前部和后部的偶数菱脑节神经嵴细胞流汇合。单独标记的颅神经嵴细胞在这些区域的迁移可以将镜头聚焦在卵上的一个四氟乙烯（特氟龙）膜窗口，通过摄影来予以跟踪。这样的实验显示，迁移的细胞之所以“保持一致”，不仅是因为邻近细胞施加的限制，也是因为前导细胞向它们后面的细胞传递一些物质。颅神经嵴细胞似乎能延伸出一些细长的桥，暂时性地连接细胞，影响后面细胞的迁移，使得它们“跟随前导细胞”[8]（Kulesa and Fraser 2000；McKinney et al. 2011）。

最近，对蛙和鱼类颅神经嵴迁移流的分析揭示，各个细胞流似乎被肝配蛋白和 semaphorin 的化学排斥特性所分开（**图 15.19A**；也见观察发育 15.3）。阻断肝配蛋白受体的活性引起不同细胞流的细胞之间相互混合（Smith et al. 1997；Helbling et al. 1998；Scarpa and Mayor 2016 综述）。此外，向腹部方向迁移的细胞流似乎受一些基板细胞的导向（Theveneau et al. 2013）。如果一个颅神经嵴细胞外植块被放置在一个基板外植块的近旁，神经嵴细胞似乎能“跟随”基板外植块，这种行为能通过敲减趋化因子的受体 CXCR4 而去除。这些以及其他实验结果使得 Theveneau 及其同事（2013）提出了“追逐和逃离”模型，以解释定向的集体迁移。

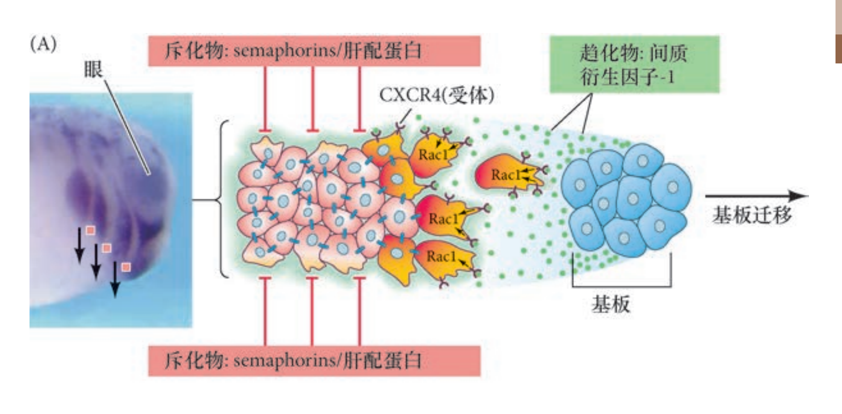
> **观察发育 15.3**　蛙胚胎中颅神经嵴细胞追逐基板的一个视频。在另外一个视频中，颅神经嵴细胞甚至能在分离的体外培养条件下追逐基板细胞。

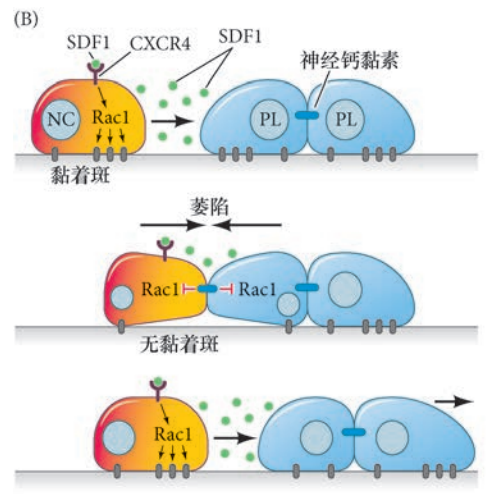
已有研究发现，基板细胞分泌化学趋化物**间质衍生因子 -1**（**stromal-derived factor-1，SDF1**），因此

---

[8] 我们之前已经看到类似的现象，例如，鸡的神经褶细胞（其中一部分很可能变成神经嵴细胞）和肢芽、斑马鱼的早期卵裂球，以及海胆小分裂球的延伸。

建立了一个基板处浓度最高的梯度。颅神经嵴细胞表达这个配体的受体，即 CXCR4（趋化因子 CXC 亚家族受体 -4）。CXCR4 能使神经嵴细胞感知间质衍生因子 -1 梯度的吸引并引导它们向基板迁移（“追逐”）。但是，当神经嵴细胞接触基板时，神经嵴细胞与基板细胞之间的运动接触抑制使得基板细胞迁移离开接触的位点（“逃离”）。然而，间质衍生因子 -1 的化学趋化力将使神经嵴细胞在腹部方向重新开始追逐“逃离”的基板（图 15.19B；Theveneau et al. 2013；Scarpa and Mayor 2016）。





拓展性问题

我们讨论了躯干神经嵴细胞在它们的迁移过程中逐渐成熟。颅神经嵴细胞彼此更紧密地黏附在一起，并且进行集体迁移，说明可能有另外一种不同的机制调节颅神经嵴细胞的逐渐成熟。位于集体迁移流中央的细胞比那些位于周围的细胞是否获得了不同的图式，或者细胞沿它们的迁移途径的时空定位是否与它们的特化相关联？

图 15.19　趋化性细胞迁移的“追逐和逃离”模型。(A) 显微照片是非洲爪蛙头部颅神经嵴细胞流的侧面观，通过对 *FoxD3* 和 *Dlx2* 的原位杂交显示迁移前和迁移中的颅神经嵴群体（深紫色）。图示说明颅神经嵴细胞使用图 15.11 所描述的自主机制进行集体迁移。在这个图中，一个位于腹部的基板（蓝色细胞）通过 SDF1-CXCR4 信号（“追逐”）吸引颅神经嵴细胞流的前导边缘。颅神经嵴细胞在接触基板时触发接触抑制，将基板前推（“逃离”）。一些斥化物限制神经嵴细胞侧向游离到细胞簇之外。(B) 导致基板（蓝色）和颅神经嵴（红色 / 黄色）细胞向前进行迁移性运动的内在分子事件和随之发生的细胞行为。NC：神经嵴细胞；PL：基板细胞（参考 Theveneau et al. 2013；Scarpa and Mayor 2016。照片来自 Kuriyama et al. 2014）。

网络话题 15.2　膜内骨和神经嵴细胞对构建头部骨骼的作用　进一步了解构建颅骨所需的外胚层和中胚层细胞骨化机制。

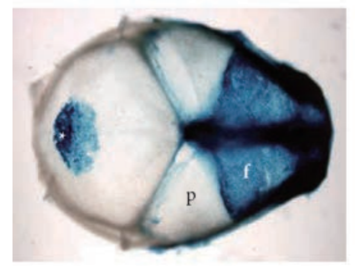
15.1.8　源自神经嵴的头部骨骼

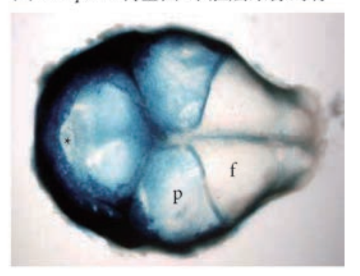
脊椎动物的头骨或**颅骨**（**cranium**），由**脑颅**（**neurocranium**）和**脏颅**（**viscerocranium**）组成。脑颅包括颅盖和颅底，而脏颅包括颌及其他咽弓衍生物。颅骨的骨被称为膜内骨（**intramembranous bone**），因为它们是通过直接在结缔组织上沉积钙化骨针所形成的，而不需要一个软骨前体。颅骨既来自神经嵴，也来自头部中胚层（Le Lièvre 1978；Noden 1978；Evans and Noden 2006）。尽管脏颅的神经嵴来源已有很多描述，颅神经嵴细胞对颅盖的形成还有很多争议。在 2002 年，Jiang 及其同事构建了仅在颅神经嵴细胞中表达 β- 半乳糖苷酶的转基因小鼠[9]。在胚胎小鼠中对 β- 半乳糖苷酶染色时发现，形成头前部的细胞

---

[9] 这些实验使用了 Cre-lox 位点特异的重组酶技术。小鼠对于 β- 半乳糖苷酶等位基因和 Cre 重组酶等位基因都是杂合体。β- 半乳糖苷酶等位基因只有在细胞中的 Cre 重组酶被激活时才表达，而 Cre 重组酶等位基因与 *Wnt1* 基因的启动子融合。因此，β- 半乳糖苷酶仅在表达 Wnt1 的细胞中被激活（蓝色染色）。Wnt1 是一个在颅神经嵴和一些脑细胞中被激活的蛋白质。

（鼻骨、额骨、翼蝶骨、鳞骨）被染成蓝色；而头骨的顶骨却没有被染色（图 15.20A，B）。神经嵴来源的头骨与中胚层来源的头骨的边界位于额骨和顶骨之间（图 15.20C；Yoshida et al. 2008）。尽管一些细节在脊椎动物类群中存在差异，但头骨前部通常来自神经嵴，而头骨后部是神经嵴来源和中胚层来源的一个组合。形成面肌的神经嵴细胞与颅中胚层的细胞混合在一起，所以面肌很可能也具有双重来源（Grenier et al. 2009）。





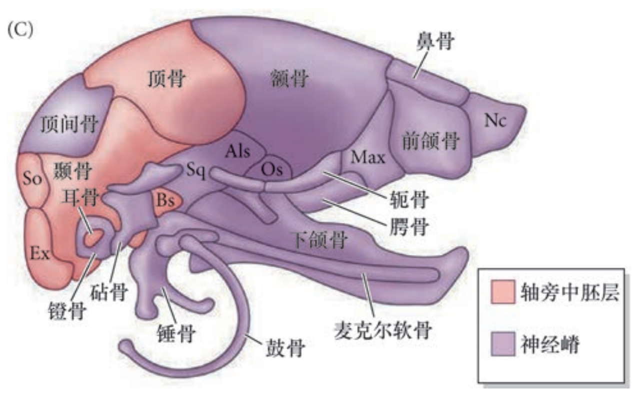


图 15.20　小鼠胚胎中的颅神经嵴细胞，染色显示β-半乳糖苷酶的表达。(A) 在 *Wnt1-Cre* 品系中，β-半乳糖苷酶在任何表达 Wnt1（一个神经嵴标志物）的细胞中表达。一个 17.5 天的小鼠胚胎的背面观，显示额骨 (f) 和顶间骨（星号）的染色，而顶骨 (p) 没有被染色。(B) 在 *Mesp-Cre* 品系的小鼠中，β-半乳糖苷酶在那些来自中胚层的细胞中表达。这里可见交互的染色图式，顶骨呈蓝色。(C) 概要图显示 Sox9 和 Wnt1 标志物的谱系示踪结果 (Als：翼蝶骨；Bs：基碟骨；Ex：外枕骨；Max：上颌骨；Nc：鼻囊；Os：眶蝶骨；So：上枕骨；Sq：鳞骨）(A 图和 B 图来自 Yoshida 2008，由 G. Morriss-Kay 提供；C 图来自多个来源，包括 Noden and Schneider 2006；Lee and Saint-Jeannet 2011)。

鉴于神经嵴形成我们的面部骨骼，因此可以断定，即使是神经嵴细胞分裂的速度和方向上出现微小变化也能决定我们的模样。而且，我们比自己的朋友更像我们的亲生父母（至少我们希望这是真的），因此这些微小的差异一定是遗传的。我们的面部特征的调节可能在很大程度上受众多的旁分泌生长因子协调。一些骨形态发生蛋白（特别是 BMP3）和 Wnt 信号能引起额鼻突和上颌突的凸起，赋予面部的形态 (Brugmann et al. 2006；Schoenebeck et al. 2012)。来自咽内胚层的一些成纤维细胞生长因子能将颅神经嵴细胞吸引到咽弓，并且能图式化其中的骨骼成分。成纤维细胞生长因子 -8(Fgf8) 既是颅神经嵴细胞的存活因子，也对形成面部骨骼的细胞的增殖有关键作用 (Trocovic et al. 2003，2005；Creuzet et al. 2004，2005)。成纤维细胞生长因子与骨形态发生蛋白协同作用，有时激活它们的增殖，有时抑制它们的增殖 (Lee et al. 2001；Holleville et al. 2003；Das and Crump 2012)。

15.1.8.1　面部和脑生长的协调

“脸反映脑”是临床遗传学的一个泛化。尽管所有的情况并非总是如此，医生们都知道具有面部异常的儿童可能同时也有脑畸形。Le Douarin 及其同事 (2007) 对面部形态和脑生长之间的协调予以了重点研究。首先，他们发现形成面部骨骼的颅神经嵴区域对前部脑的生长也有关键作用（图 15.21）。当鸡神经嵴的这个区域被去除时，不仅鸟的面部不能形成，端脑也不能生长。然后，他们发现，将含有成纤维细胞生长因子 -8 的珠子植入到前神经褶（前神经孔处的神经褶）能拯救前脑的发育。但是，这个发现很奇怪，因为颅神经嵴并不表达或分泌成纤维细胞生长因子 -8；前神经褶通常分泌这个因子。这样看来，去除颅神经嵴能阻止前神经褶产生对前脑增殖所需要的成纤维细胞生长因子 -8。

通过分析前部神经褶区域表达的一些基因的作用，Le Douarin 及其同事猜想，来自表面外胚层的骨

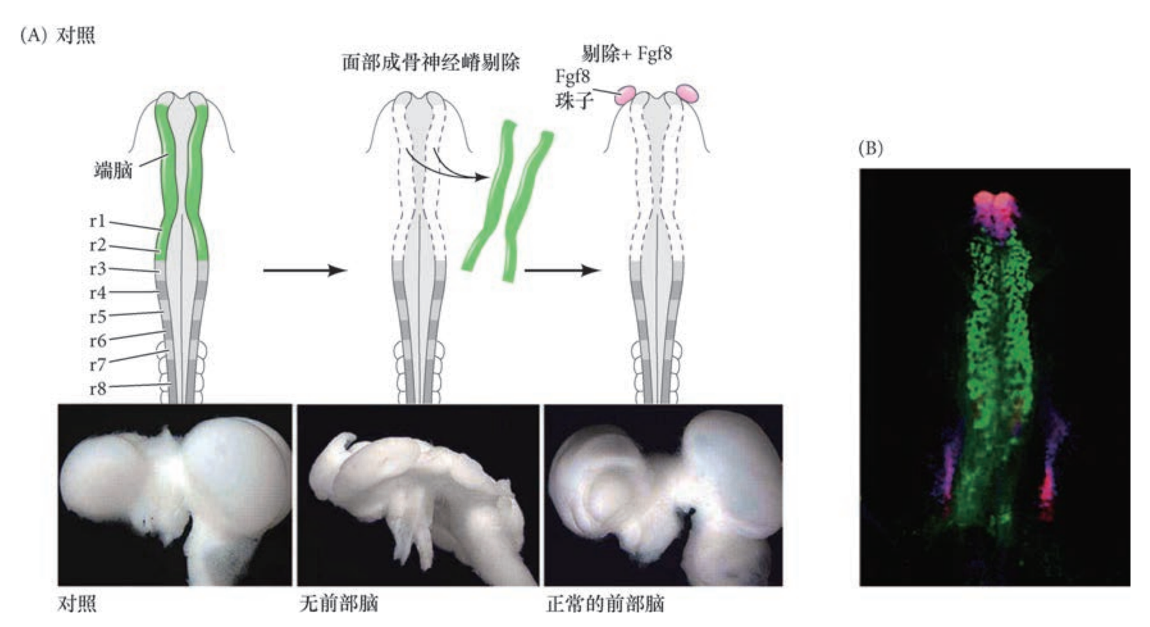


图 15.21 形成面部骨骼的颅神经嵴对脑前部区域的生长也有关键作用。(A) 在 6 体节期的鸡胚胎中去除形成面部骨骼的神经嵴细胞能中断端脑的生长，并抑制面部骨骼的形成。将含有成纤维细胞生长因子 -8(Fgf8) 的珠子植入到前神经褶能拯救端脑的发育。(B)HNK-1（标记神经嵴细胞；绿色）染色的胚胎。成纤维细胞生长因子 -8 在这个图中呈粉色。r1 ～ r8 指菱脑节 1 ～ 8（参考 Creuzet et al. 2006，2009；照片由 N. Le Douarin 提供）。

形态发生蛋白 -4 能阻断成纤维细胞生长因子 -8。颅神经嵴细胞分泌头蛋白和 Gremlin，这是两个结合和抑制骨形态发生蛋白 -4 的细胞外蛋白，能促使前部神经褶产生成纤维细胞生长因子 -8 和前脑结构的发育。因此，颅神经嵴不仅提供了构建面部骨骼和结缔组织的细胞，它们也调节成纤维细胞生长因子 -8 在前部神经褶的表达，从而促进了中脑和前脑的发育。

网络话题 15.3 **鸟为什么没有牙齿** 面部和颌的形成受一系列的颅神经嵴细胞迁移，以及这些神经嵴细胞与周围组织的相互作用所协调。

15.1.9 心脏神经嵴

心脏最初形成在颈部区域，位于咽弓的正下方，所以它获得了来自神经嵴的细胞就并不奇怪。咽外胚层和咽内胚层都分泌成纤维细胞生长因子 -8，作为一个趋化因子将神经嵴细胞吸引到这个区域。的确，如果将含有大量成纤维细胞生长因子 -8 的珠子植入到鸡胚胎咽部的背侧，心脏神经嵴细胞就会迁移到那个位置（Sato et al. 2011）。颅神经嵴的尾部区域被称为心脏神经嵴，因为这些细胞（也只有这些特殊的神经嵴细胞）产生主动脉弓动脉的内皮，以及主动脉和肺动脉之间的隔膜（图 15.22；Kirby 1989；Waldo et al. 1998）。心脏神经嵴细胞也进入第三、第四和第六咽弓，变成其他颈部结构的一部分，如甲状腺、甲状旁腺和胸腺。这些细胞经常被称为围咽神经嵴（Kuratani and Kirby 1991，1992）。在胸腺中，神经嵴来源的细胞对于适应性免疫最关键的功能之一尤为重要：它们调节成熟的 T 细胞离开胸腺，进入循环系统（Zachariah and Cyster 2010）。颈动脉体（监测血液中的氧和调节呼吸）也有可能是来自心脏神经嵴（见 Pardal et al. 2007）。

小鼠中的心脏神经嵴细胞比较特殊，这是因为它们表达转录因子 Pax3。这个基因的突变导致心脏神经嵴细胞数量减少，进而引起动脉干永存（主动脉和肺动脉不分离），以及胸腺、甲状腺和甲状旁腺的缺陷（Conway et al. 1997，2000）。从神经管背部到心脏的途径似乎需要 semaphorin-3C 提供的吸引信息与 semaphorin-6 提供的排斥信号之间的协调（Toyofuku et al. 2008）。人类和小鼠中的先天性心脏缺陷通常与甲状旁腺、甲状腺和胸腺的缺陷同时发生。所以，这些异常的问题都与来自神经嵴的细胞迁移缺陷相关

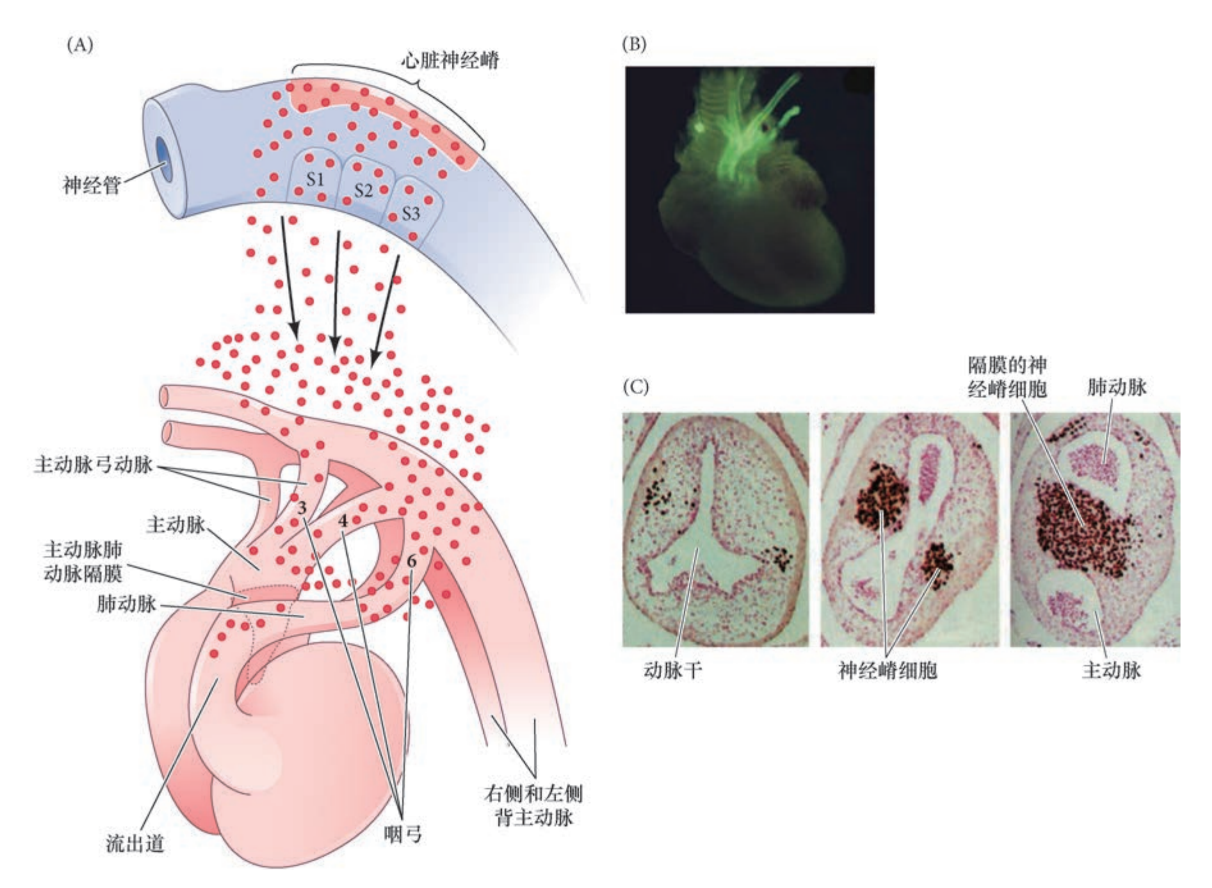


图 15.22　心脏神经嵴的细胞形成心脏的隔膜（将动脉干分成肺动脉和主动脉）。(A) 在人类妊娠的第五周，心脏神经嵴细胞迁移到第三、第四和第六咽弓，进入动脉干并形成隔膜。(B) 在一个转基因小鼠中，绿色荧光蛋白的表达仅限于具有心脏神经嵴标志物 Pax3 的细胞，心脏的流出道区域被标记。(C) 鹌鹑的心脏神经嵴细胞被移植到一个鸡胚胎的对应区域，然后使胚胎继续发育。鹌鹑的心脏神经嵴细胞被鹌鹑的特异抗体所显示（深色染色）。在心脏中，这些细胞将动脉干分隔成肺动脉和主动脉（A 图参考 Hutson and Kirby 2007；B 图来自 Stoller and Epstein 2005；C 图来自 Waldo et al. 1998，由 K. Waldo 和 M. Kirby 提供）。

也就并不奇怪（Hutson and Kirby 2007）。

15.2　建立神经系统中的轴突途径

在 20 世纪初就已经有很多相互冲突的理论来试图解释轴突是如何形成的。Theodor Schwann（西奥多 • 施万；他发现了施万细胞）认为众多的神经细胞将自身连接成一条链而形成轴突。Viktor Hensen 是鸟类胚胎原结的发现者，他认为轴突形成于细胞之间已有的细胞质线。Whilhelm His（1886）和 Santiago Ramóny Cajal（1890）设想轴突是一个神经元细胞体的外向生长（尽管这是一个巨大的生长）。

在 1907 年，Ross Granville Harrison 通过一个优雅的实验证明了轴突的外向生长理论，因而诞生了发育神经生物学和组织培养技术。Harrison 从 3 mm 长的蛙蝌蚪中分离出一段神经管（在这个时期，神经管刚闭合不久，还没有可见的轴突分化）。他将这个含有成神经细胞的组织放入盖玻片上的一滴蛙淋巴液中，然后把盖玻片倒置在一个具有凹面的载玻片上，这样他就可以观察这个“悬滴”内发生的现象。Harrison 所看到的是，轴突从成神经细胞向外生长，以每小时大约 56 mm 的速度延伸。

与大多数细胞不同，神经元并非被限制在它们的直接空间；相反，它们可以产生一些延伸出数米长的轴突。在人的脑中，860 亿个神经元中的每一个都具有以特定的方式与几千个其他神经元相互作用的潜

能（图 15.23；Azevedo et al. 2009）。一个大的神经元（如浦肯野细胞或运动神经元）能接收来自 10 万多个其他神经元的输入信息（Gershon et al. 1985）。了解这种惊人有序的复杂性的产生是现代科学面临的最大挑战之一。这个复杂的回路是如何建立的？我们在讨论神经元如何延伸它们的轴突、轴突如何被导向至它们的目标细胞、突触如何形成，以及一个神经元的存活或死亡机制时将会探索这一问题。

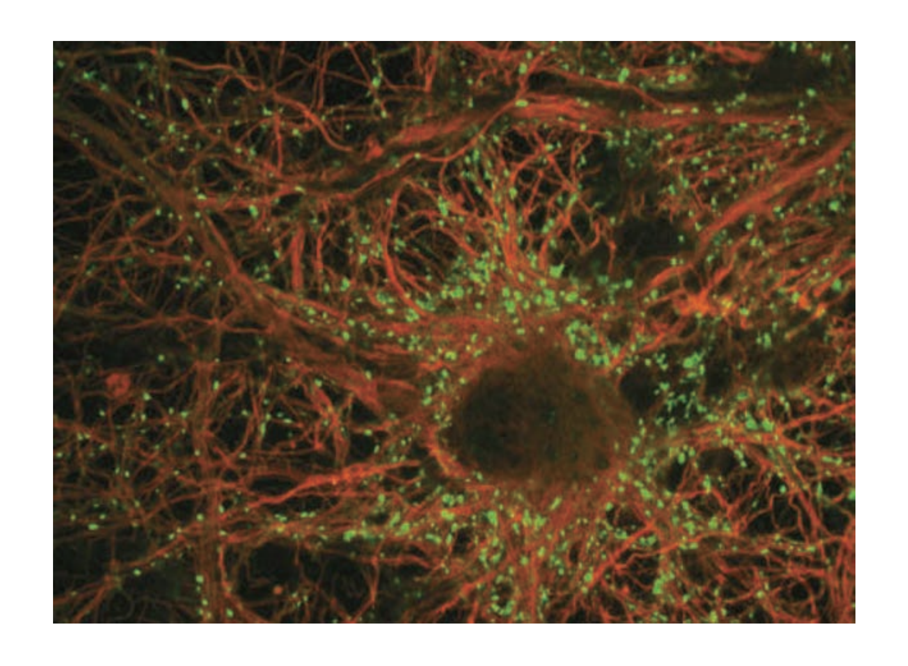


图 15.23 一些轴突与一个体外培养的大鼠海马神经元的连接。这个神经元被微管蛋白的荧光抗体染成红色。它似乎被突触蛋白（绿色）环围，而且突触蛋白表达在与它相接触的轴突末端（照片由 R. Fitzsimmons 和 PerkinElmer Life Sciences 提供）。

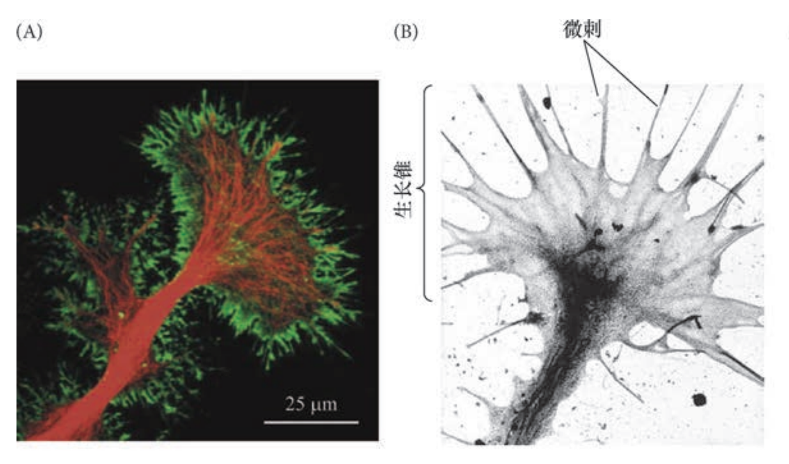
网络话题 15.4 **发育神经生物学的演化** Santiago Ramón Cajal、Viktor Hamburger 及 Rita Levi-Montalcini 提出了一些目前仍然困扰我们的重要问题，使得神经发育的研究有章可循。

15.2.1 生长锥：轴突寻径的驱动器和引擎

在本章的前面我们提出了一个比喻，比较了细胞迁移和交通中车辆的行驶（见图 15.7）。类似的比喻也可以用于轴突寻径，把它与行进的列车进行比较。一个神经元需要与远距离的一个目标细胞建立轴突连接。如同列车的引擎，一个轴突的运动器，即**生长锥**（**growth cone**），位于前方。也像一些新的车厢被挂在引擎的后面一样，轴突通过微管的聚合而生长（图 15.24A）。生长锥被称为“一个链条上的神经嵴细胞”，因为它像神经嵴细胞一样能够迁移和感知环境信息。而且，它能对迁移细胞所感知的一些相同信号做出应答。

生长锥不是在一条直线上向前运动，而是沿着基质“感知”它的道路。生长锥通过延伸和收缩一些称为**微刺**（**microspike**）的尖丝足而移动（图 15.24B）。这些微刺含有沿轴突的长轴而平行定向的微丝（这个机制与棘皮动物次级间充质细胞中丝足的微丝相似；见第 10 章）。微管提供轴突内部的结构支撑。如果将神经元置于秋水仙碱溶液中（微管聚合抑制剂），微刺就会被破坏，轴突也将回缩（Yamada et al. 1971；Forscher and Smith 1988）。

像大多数迁移细胞一样，生长锥的探索性微刺附着在基质上，产生一个拉动其他细胞前移的力量。如果生长锥不能前行，轴突将不能生长（Lamoureux et al. 1989）。除了在轴突迁移中起结构性作用以外，微刺也具有感觉功能。它们在生长锥前端呈扇形展开，每个微刺都能感知周围的微环境，并将信号发送回细胞体（Davenport et al. 1993）。轴突向正确目标的延伸取决于细胞外环境的导向分子，在轴突试图建立正确的突触连接时，生长锥通过应答导向信息来决定转向或不转向。这种不同的应答能力是基于生长锥细胞膜上表达的受体的差异。生长锥能感知环境并将细胞外信号解读成定向的运动（图 15.24C）。它们通过改变细胞骨架、变化膜生长、协调细胞黏附和细胞运动以使用方向性信息来促进特定的迁移（Vitriol



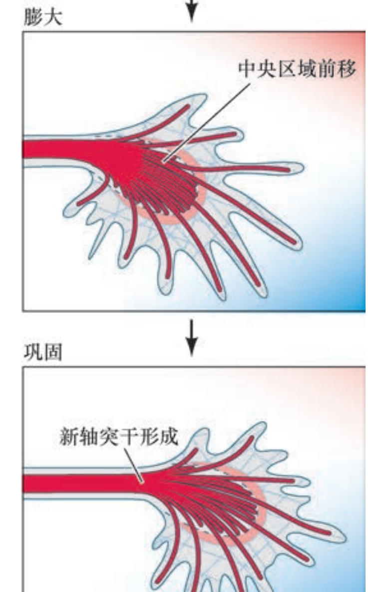


图 15.24 轴突生长锥。(A) 天蛾 (*Manduca sexta*) 的轴突延伸和导向过程中的生长锥。丝足中的肌动蛋白被荧光鬼笔环肽染成绿色，微管被荧光标记的微管蛋白抗体染成红色。(B) 一个轴突生长锥中的肌动蛋白微刺（透射电子显微镜照片）。(C) 生长锥的外围具有板足和丝足。板足是主要的运动器，出现在朝一个刺激物转向的区域。丝足是感知结构。两种结构都含有肌动蛋白微丝。生长锥中还有一个中央微管区域，一些微管向外延伸到丝足。进入外围区域的微管能被一些受吸引或排斥信号活化的蛋白质所延长或缩短。在吸引过程中，一些调节性蛋白结合到微管正端，稳定和延长微管。而在吸引信息的对侧，微管从外围被去除。CLASP：细胞质连接物缔合蛋白；APC：腺瘤性结肠息肉病蛋白 (A 图由 R. B. Levin 和 R. Luedemanan 提供；B 图来自 Letourneau 1979；C 图参考 Lowery 和 Van Vactor 2009；Bearce et al. 2015；Cammarata et al. 2016)。

and Zheng 2012)。

生长锥有两个主要的区域。中央区域含有微管，能延伸轴突干、支持线粒体和其他细胞器（见图 15.24C)。外围区域含有两个肌动蛋白相关的膜突出：板足是宽的膜状板并含有短而分支的肌动蛋白网络，作为生长锥的迁移网络；丝足是一些由长束丝状肌动蛋白延伸的膜，作为感觉网络。中央区域和外围区域之间的过渡带能协调肌动蛋白和微管蛋白的生长 (Rodriguez et al. 2003；Lowery and Van Vactor 2009)。来自微管束中央区域核心的单个“先驱”微管穿过界定过渡带的肌动蛋白弧，延伸到生长锥的外围。这些先驱微管动态地与肌动蛋白微丝相结合，微管与微丝共同生长和收缩以进行具有丝足特征的指状运动 (Mitchison and Kirschner 1988；Sabry et al. 1991；Tanaka and Kirschner 1991，1995；Schaefer et

al. 2002）。微管和肌动蛋白的膜突出，加上选择性黏附和膜的回收使用，提供了轴突运动和方向性的驱动力。

15.2.1.1 “正端”以及肌动蛋白和微管的相互作用

肌动蛋白丝和微管在外围区域的调节对生长锥的运动起重要作用。与微管的远端或正端相作用的蛋白质复合物已经被鉴定出来，命名为“微管正端跟踪蛋白”或简称“正端”蛋白。例如，细胞质连接物缔合蛋白（cytoplasmic linker associated protein，CLASP）和腺瘤性结肠息肉病蛋白（adenomatous polyposis coli，APC），根据它们磷酸化水平的差异，能稳定和促进微管延伸，或从微管解离而抑制轴突生长。 正端蛋白在微管的远端直接与末端结合蛋白（EB1/3）相结合。末端结合蛋白无论在微管生长还是退缩的情况下都维持在原位（**图 15.25A**，见图 15.24C；Lowery et al. 2010；见 Lowery and Van Vactor 2009；Bearce et al. 2015；Cammarata et al. 2016 综述）。

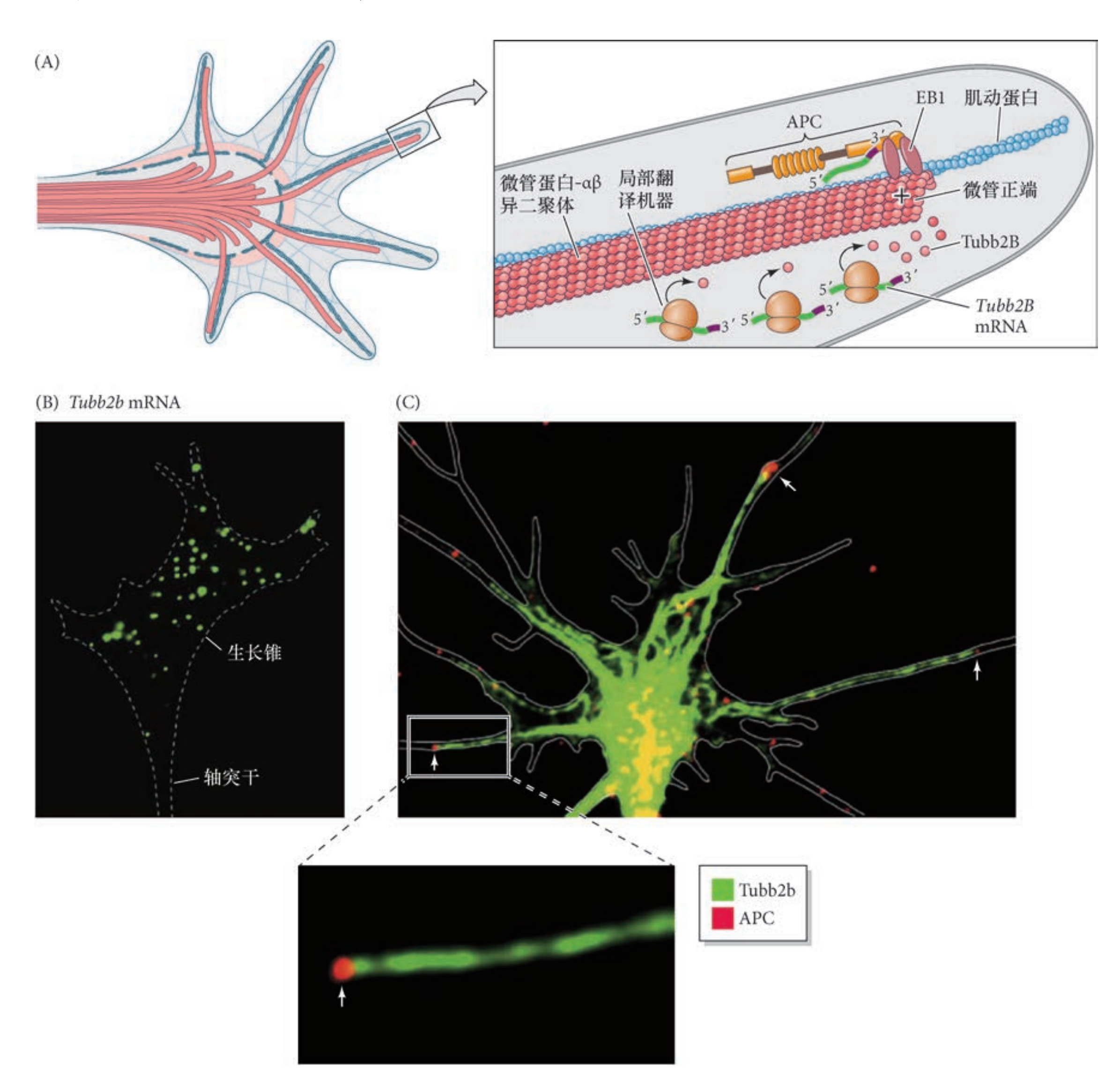


图 15.25 腺瘤性结肠息肉病蛋白（APC）将微管蛋白的 mRNA 定位在微管的正端，通过空间上的靶向翻译促进生长锥的扩展。(A) 示意图展现微管蛋白 -β2B（Tubb2b）转录物的局部定位和靶向翻译使得微管在正端迅速延伸。(B) 荧光原位杂交显示一个神经元细胞系（白色轮廓）的生长锥表达微管蛋白 -β2B 的 mRNA（绿色）。(C) 腺瘤性结肠息肉病蛋白和微管蛋白 -β2B 在分离的大鼠背根神经节的一个神经元外周区域的免疫定位。腺瘤性结肠息肉病蛋白共定位在含有微管蛋白 -β2B 的微管末端（箭所示），见放大的小图。EB1：末端结合蛋白 -1（A 图参考 Coles and Bradke 2014；B 图和 C 图来自 Preitner et al. 2014）。

如果考虑一个新生神经元的生长锥将要经历的令人难以置信的旅程，某种“供求关系”问题就自然地呈现出来。生长锥对蛋白质的现货供应需求，如微管蛋白和肌动蛋白单体，必须是最重要的，以完成轴突在寻径过程中的长距离延伸。随着延伸的进行，生长锥离细胞体和蛋白质合成中心越来越远，这说明满足生长锥的蛋白质亚基需求可能会变得越来越困难。然而，最近的工作（Preitner et al. 2014）显示，一些转录物能被储存在生长锥中以备就地翻译，腺瘤性结肠息肉病蛋白能在微管的远端结合和维持一些转录物，如微管蛋白 -β2B（*Tubb2b*）。它还与促进微管蛋白 -β2B 翻译的一些因子共定位，使得微管能够快速延伸（**图 15.25B，C**）。

科学家讲座 15.3　Laura Anne Lowery 和 David Van Vactor 博士讲述细胞质连接物缔合蛋白的鉴别，以及它在果蝇轴突导向中的作用。

15.2.1.2　把你的肌动蛋白丝划向下游的信号流

肌动蛋白聚合的调节能驱使生长锥的运动，因此这是很多分子导向途径的目标。**Rho 鸟苷三磷酸酶**（**Rho GTPase**）在细胞中调节肌动蛋白微丝的生长。这些酶能被结合肝配蛋白、神经轴突导向因子、Slit 蛋白或 semaphorin 蛋白的受体所激活或抑制（**图 15.26A**）。类似地，对微管蛋白聚合形成微管的调节也十分重要，因为微管蛋白需要在生长锥接收吸引性刺激的一侧聚合，而它的聚合在吸引性刺激的对侧受到抑制。的确，微管蛋白在这里被解聚并被循环使用（Vitriol and Zheng 2012）。

> **拓展性问题**
>
> 腺瘤性结肠息肉病蛋白将 mRNA 定位在微管的生长端，就像一个连续供应的燃料被注入机动化生长锥的油箱一样。细胞质连接物缔合蛋白，以及其他 7 个或更多家族的“正端”蛋白的功能是什么？它们是否也能隔离转录物？直到最近我们才意识到细胞内区域化的蛋白质合成可能是发育变化的一个机制。发育生物学中还有多少其他事件也可能涉及 mRNA 或翻译机器的空间限制容器？

黏附被认为是定向运动的“离合器”。既然肌动蛋白是被连接在细胞膜上，现在我们来考虑肌动蛋白组装和解离的动态引起肌动蛋白逆流这个问题，也就是想象一下肌动蛋白远离生长锥的尖端而朝向细胞体移动（“踏车现象”或“轮回”；**图 15.26B**）。但是，如果细胞膜被锚定到外部的黏附分子（通过它的整联蛋白或钙黏着蛋白），那么细胞膜就会被向前推进（Bard et al. 2008；Chan and Odde 2008）。如果没有这种锚定黏附，就不会产生净运动。但若黏附过于稳定，生长锥也会停止运动。因此，这种黏附需要不断地形成和打破才能使生长锥前进。这些过渡性的黏附复合物被称为黏着斑，它们在细胞内结合肌动蛋白，在细胞外结合细胞外环境。黏着斑可能含有多达 100 种不同的蛋白质组分（Geiger and Yamada 2011）。其中之一是黏着斑激酶（FAK），它对黏着斑的组装、稳定和降解有重要作用（Mitra et al. 2005；Chacon and Fazzari 2011），它似乎也能够识别吸引性和排斥性刺激物。对黏着斑成分的研究正在为我们阐明细胞骨架生长和膜周转相互协调而产生牵引力的一些机制。正如我们在本章前面所讨论的，Rho 鸟苷三磷酸酶和黏着斑对神经嵴细胞的迁移也有关键作用。

由于膜的周转，生长锥能够通过一些囊泡的胞吐作用以及囊泡膜与细胞膜的整合进行生长。这些囊泡（有时被称为“扩展体”）在神经元细胞体中形成，并沿着微管被运输到生长锥的中心（Pfenniger et al. 2003；Rachetti et al. 2010）。大部分这样的囊泡参与轴突的结构生长，而不决定生长锥的定向生长。然而，其中一些囊泡在应答来自膜受体的钙离子信号后从中央区域被运输到外围区域。然后，这些囊泡被整合到生长锥的尖端并能（可能是唯一的功能）将生长锥转向吸引性刺激物（Tojima et al. 2007）。排斥性信息能在与生长锥接触的区域起始内吞作用（在细胞膜上形成内陷的囊泡），从而在这个区域去除受体和减少细胞膜（Hines et al. 2010；Tojima et al. 2010）。因此，通过细胞骨架组装、细胞黏附和细胞膜周转，生长

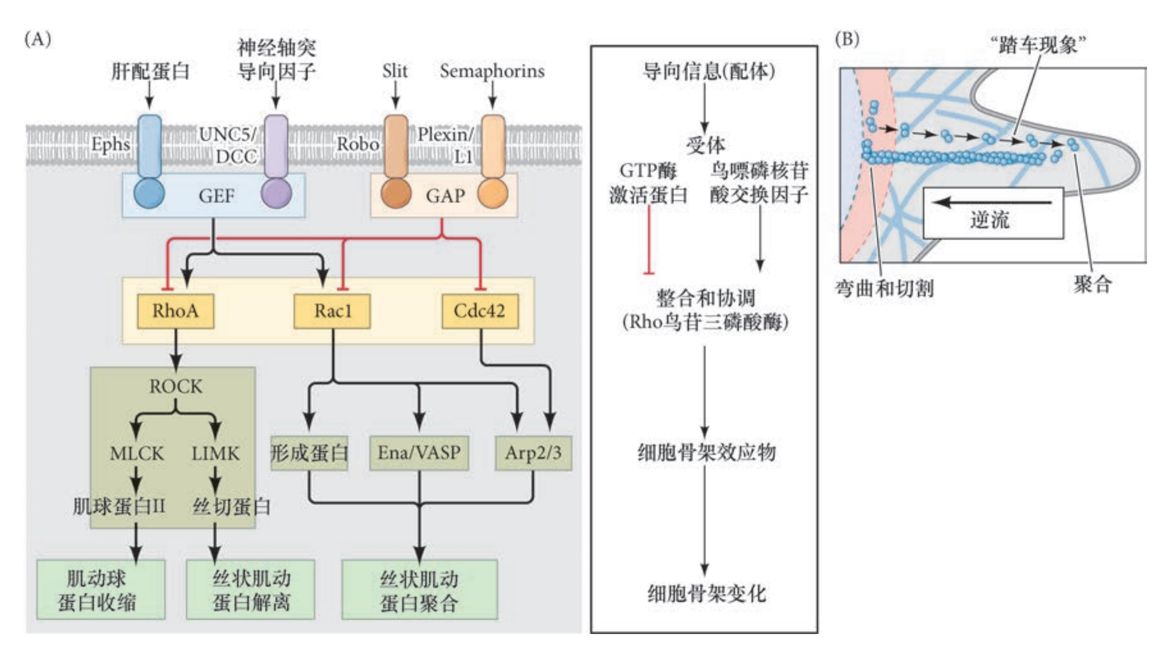


图 15.26 Rho 鸟苷三磷酸酶解读并传递外部导向信号到肌动蛋白细胞骨架。(A) 为生长锥提供信息的四个主要配体（肝配蛋白、神经轴突导向因子、Slit 蛋白和 semaphorin 蛋白）与稳定或解聚肌动蛋白微丝的受体结合。 Rho 家族的鸟苷三磷酸酶 (RhoA、Rac1 和 Cdc42) 的功能是作为一些受体与一些引起细胞骨架变化的因素之间的介导物。(B) 示意图描绘肌动蛋白的“踏车现象”，在这个过程中，肌动蛋白单体从正端流到负端，受极化的聚合和解聚所驱动。Ephs：肝配蛋白受体；L1：细胞黏附分子 -L1；DCC：结直肠癌缺失蛋白；GEF：鸟嘌呤核苷酸交换因子；GAP：GTP 酶激活蛋白；MLCK：肌球蛋白轻链激酶；LIMK：LIM 域激酶；Ena/VASP：提取性核抗原蛋白 / 血管扩张刺激的磷蛋白；Arp2/3：肌动蛋白相关蛋白 -2/3（A 图参考 Lowery and Van Vactor 2009；B 图参考 Cammarata et al. 2016）。

锥机械性地将轴突运输到正确的目标。

15.2.2 轴突导向

生长锥如何“知道”穿越众多潜在的目标细胞并形成特异的连接？ Harrison（1910）首先提出，轴突生长的特异性是因为有**先锋神经纤维**（**pioneer nerve fiber**），这是一些迁移在其他轴突之前并对这些轴突起向导作用的轴突[10]。这个观察简化了但并没有解决神经元如何形成正确的相互连接图式这个问题。然而，Harrison 也注意到，轴突必须生长在一个固体基质上，他推测胚胎细胞表面之间的差异可能使轴突朝特定的方向迁移。最终的连接将通过目标细胞表面的补充性相互作用而完成：

> 各种神经纤维与将被神经支配的特定结构之间一定有一种表面反应，这一点似乎很明确，因为尽管感觉神经纤维和运动神经纤维在同一束中紧密地在一起迁移，但各自却形成了正确的周围连接，一种连接表皮，另一种连接肌肉。上述事实说明神经连接可能与精子和卵子之间的结合相类似。

关于神经元连接特异性的研究一直集中在三个主要体系：①运动神经元，其轴突从脊髓延伸到特定的肌肉；②连合神经元，其轴突必须穿过胚胎的中线平面以支配中枢神经系统另一侧的目标；③视觉系统，其中起源于视网膜的轴突必须投射到脑中。在所有的情况下，轴突连接特异性分三个步骤进行（Goodman and Shatz，1993）：

1. 途径选择。轴突沿一条使它们通往胚胎中一个特定区域的路线迁移。
2. 目标选择。轴突一旦到达正确的区域，就会识别并结合一组细胞，并与之形成稳定的连接。

[10] 当先锋神经元的生长锥迁移到目标组织时，这时的胚胎仍然很短，其中的组织仍然相对简单。在后来的发育过程中，其他神经元与先锋神经元结合，从而进入目标组织。Klose 和 Bentley（1989）的研究表明，在某些情况下，先锋神经元在“后续”神经元到达目的地之后死亡。然而，如果先锋神经元不能分化，其他轴突便不能到达目标组织。

3. 位点选择。初始的图式被细化，使得每个轴突只结合到一小组（有时只有一个）潜在的目标。

前两个过程不依赖于神经元活动。第三个过程涉及多个活跃神经元之间的相互作用，并将一些重叠的投射转变为一个细调的连接图式。

从 20 世纪 30 年代开始人们就已经知道，即使在轴突的神经活动被阻断的情况下，运动神经元的轴突也能找到正确的肌纤维。Twitty（Harrison 的学生）及其同事发现，加州蝾螈（*Taricha torosa*）的胚胎能分泌河豚毒素（TTX），这是一种在其他物种中能够阻断神经传递的毒素。将加州蝾螈胚胎的一部分移植到其他蝾螈物种的胚胎时，能使宿主胚胎瘫痪数天而不影响发育。尽管没有神经活动，胚胎仍能形成正常的神经元连接。大约在幼体开始进食的时候，神经毒素消失，年幼的蝾螈能正常地游动和进食（Twitty and Johnson 1934；Twitty 1937）。后来的一些研究使用了缺失神经递质受体功能的斑马鱼突变体，结果证明，运动神经元能在没有神经元活动的情况下建立正常的神经支配图式（Westerfield et al. 1990）。但是问题依然存在：神经元的轴突怎么知道要去哪里？

15.2.3　运动神经元内在的导航编程

脊椎动物神经管腹外侧的神经元发育成运动神经元，它们开始成熟的首要步骤之一涉及目标特异性（Dasen et al. 2008）。向单个肌纤维投射的运动神经元细胞体被聚集在脊髓的一个纵柱（**图 15.27A**；Landmesser 1978；Hollyday 1980；Price et al. 2002）。这些聚集被划分成 Terni 柱及外侧和内侧运动柱（分别是 LMC 和 MMC），相似位置的神经元具有相似的目标（见图 13.18C）。例如，在鸡的后肢，外侧运动柱的运动神经元支配背部肌肉，而内侧运动柱的运动神经元支配腹部肌肉（Tosney et al. 1995；Polleux et al. 2007）。在整个脊椎动物中，运动神经元都采取这种排列。

运动神经元的目标在轴突延伸到周围之前就被特化。Lance-Jones 和 Landmesser（1980）的实验证明了这一点。他们反转了鸡胚胎脊髓的几个节段，将运动神经元置于新的位置。轴突最终达到了最初的目标，而不是它们的新位置所对应的目标（**图 15.27B ～ D**）。这种目标特异性的分子基础是神经元特化过程中被诱导出来的同源异形框蛋白和 Lim 蛋白家族成员（Tsushida et al. 1994；Sharma et al. 2000；Price and Briscoe，2004；Bonanomi and Pfaff，2010）。例如，所有运动神经元都表达 Lim 蛋白 Islet1 和（稍后）

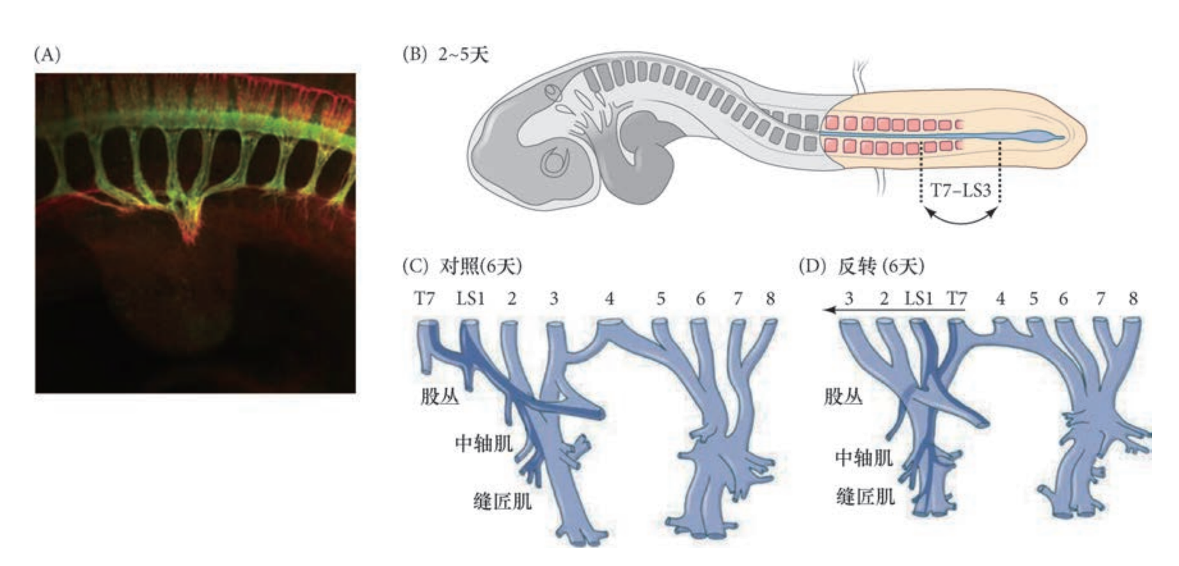


图 15.27　鸡胚胎的轴突初始位置发生微小错位时的补偿。（A）来自运动神经元和感觉神经元的轴突在找到肌肉组织目标之前聚集在一起（成束）。在 10.5 天的小鼠胚胎中，运动神经元（用 GFP 染成绿色）和感觉神经元（用抗体染成红色）在进入肢芽前成束。（B）包含 T7-LS3 节段（第七胸椎至第三腰骶节段）的一段脊髓在 2.5 天的胚胎中被反转。（C）在第 6 天时轴突投射到前肢肌肉的正常图式。（D）在第 6 天时被反转的节段中的轴突投射。异位放置的神经元最终找到了正确的神经途径，并支配正确的肌肉组织（A 图来自 Huettl et al. 2011，由 A. Huber-Brösamle 提供；B ～ D 图参考 Lance-Jones and Landmesser 1980）。

Islet2。如果其他 Lim 蛋白不表达，神经元将投射到肢腹部的肌纤维（图 15.28），这是因为轴突（就像躯干神经嵴细胞一样）合成 neuropilin-2，它是表达在肢芽背部的斥化物 semaphorin-3F 的受体。但是，如果 Lim1 蛋白也表达，运动神经元将投射到肢背部的肌纤维。这种轴突向肢背部肌纤维的生长是因为 Lim1 蛋白诱导肝配蛋白受体 A4(EphA4) 的表达，而肝配蛋白受体 A4 是表达在肢芽腹部的斥化物肝配蛋白 A5(ephrinA5) 的受体。因此，肢的运动神经元支配依赖于一些排斥性信号。然而，进入体壁中轴肌肉的运动神经元却被化学吸引带到那里（的确，这些轴突急转向发育中的肌肉组织），因为这些运动神经元表达 Lhx3，Lhx3 转而诱导成纤维细胞生长因子的一个受体的表达。生皮肌节（含有肌前体细胞的体节区域）能分泌一些成纤维细胞生长因子。所以，这个过程是一个典型的形态发生素（如成纤维细胞生长因子）以导向分子的方式直接引导轴突的例子。稍后我们将再次讨论这一点。总之，运动神经元通过一些内在的“程序”来寻找它们的目标，这些“程序”使不同的运动神经元表达不同的细胞表面分子，而这些分子决定了轴突生长锥对它们的途径中和目标上的导向信息的应答性。

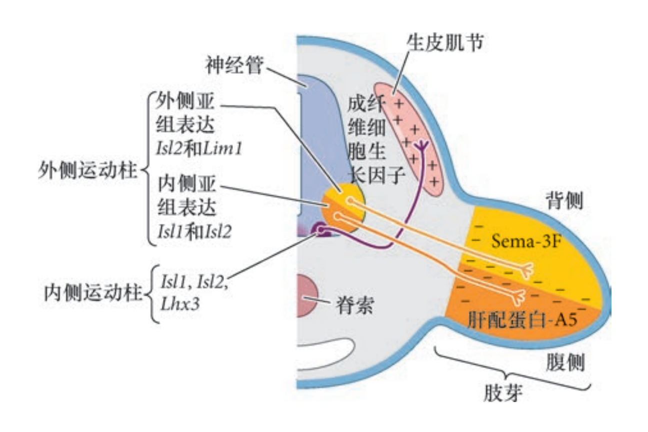


图 15.28 脊髓在支配鸡胚胎后肢时运动神经元的组织化和 Lim 蛋白的特化作用。三个不同的神经柱中的神经元表达特定的一组 Lim 家族基因（包括 *Isl1* 和 *Isl2*），每个神经柱中的神经元具有相似的寻径选择。内侧运动柱的神经元被生皮肌节分泌的成纤维细胞生长因子吸引到中轴肌。外侧运动柱的神经元将轴突输送到肢的肌肉组织。在这些神经柱被细分的位置，内侧亚组向腹部位置投射，因为它们被肢芽背部中的 semaphorin-3F 所排斥；而外侧亚组将轴突输送到肢芽的背部区域，因为它们被腹部合成的肝配蛋白 A5 所排斥（参考 Polleux et al. 2007）。

15.2.3.1 细胞黏附：一种争夺途径的机制

一个轴突生长锥经历的最初途径受生长锥接触的环境所决定。一个神经元的极性，即细胞的哪个部分将延伸轴突，在很大程度上取决于神经元对它的直接环境中的细胞黏附信息的应答。整联蛋白和神经钙黏素能作为受体，按照来自细胞外基质和周围细胞的细胞膜的信息确定神经元的方向（Myers et al. 2011；Randlett et al. 2011；Gärtner et al. 2012）。这些受体招募肌动蛋白，在特定的区域形成微丝。微丝能够运输招募微管的动力蛋白，而微管能使轴突延伸（Ligon et al. 2001）。

一旦轴突开始形成，其生长锥将接触不同的基质。生长锥黏附在一些基质上并向它们运动。其他一些基质能使生长锥缩回，防止轴突向它们生长。生长锥偏好在比它们周围更有黏性的表面上迁移，一些黏附分子（如层粘连蛋白）形成的轨道可以将它们导向至目标（Letourneau 1979；Akers et al. 1981；Gundersen 1987）。

除了常规的细胞外基质信息外，还有一些重要的细胞间黏附接触能为生长锥的迁移提供容许性基质。例如，生长锥最常尾随的轨道是先前铺好的轴突。运动神经元似乎被内在因素锁定到它们的最终目标所在的位置（见图 15.27B ～ D），而人们很早就知道感觉神经元需要运动神经元来建立正确的连接（Hamburger 1929；Landmesser et al. 1983；Honig 1986）。一些运动神经元似乎合成一些特定的化合物（如肝配蛋白受体），使得感觉神经元黏附在运动轴突上并沿着这些轨道运动（Huettl et al. 2011；Wang et al. 2011）。一个轴突能黏附在另一个轴突上，并利用这个轴突进行生长（见图 15.27A），这个过程称为**成束生长**（**fasciculation**）。有趣的是，脊髓神经的轴突在它们共同生长的过程中利用神经细胞黏附分子进行成束生长；然而，轴突在背部的分离以支配轴上（背部）肌需要利用聚唾液酸（PSA）对神经细胞黏附分子进行修饰。聚唾液酸的修饰短暂地打破同亲和性神经细胞黏附分子之间的相互作用，促进了去成束生

长和应答一些信息（如上述的成纤维细胞生长因子）以探索不同的途径（Tang et al. 1992；Allan and Greer 1998）。这是一些局部接触介导的导向信息（肝配蛋白受体 / 神经细胞黏附分子）的例子，这个机制调节运动神经元和缔合的感觉神经元之间的密切黏附连接（见图 15.28）。

15.2.3.2　局部和长距离导向分子：胚胎的路标

通过胚胎环境的导航的确受一些分子的指引，这些分子的功能很像一些交通标志、路灯和其他方向性信息，使得我们能在周围环境中找到路。科学家对一个生长锥在它的旅途中所做出的很多决定给予了解释，认为这是在被胚胎的一个特定区域吸引过来或排斥出去之间的选择（见图 15.24）。在生长的轴突中触发吸引性和排斥性应答的一些信号属于四个蛋白质家族：肝配蛋白、semaphorin、神经轴突导向因子和 Slit 蛋白；我们已经看到相同的一些蛋白质也参与调节神经嵴细胞的迁移（见 Kolodkin and Tessier-Lavigne 2011）。神经嵴细胞通过它们对肝配蛋白的识别而被图式化。对于一组细胞（如经过真皮的预定黑素细胞）是吸引信息的信号，对于其他细胞（如预定交感神经节）则会变成排斥信号。一个导向信号起吸引或排斥作用取决于：①接收这个信号的细胞类型；②细胞接收这个信号的时间。最有趣的是，神经发育使用了动态的机制来改变一个生长锥的应答反应，使得生长锥对之前一些或者没有作用，或者产生活跃吸引作用的相同信号产生排斥反应。

15.2.3.3　排斥图式：肝配蛋白和 semaphorin

两个膜蛋白家族的成员——肝配蛋白和 semaphorin，参与神经的图式化。正如神经嵴细胞受到抑制而不能迁移穿过一个生骨节的后部一样，来自背根神经节和运动神经元的轴突也只能穿过每个生骨节的前部，而避免经过后部迁移（**图 15.29A**；也见图 15.13）。Davies 及其同事（1990）证明，从一个体节的后部所分离的膜能引起这些神经元的生长锥萎陷（**图 15.29B，C**）。这些生长锥含有肝配蛋白受体（与肝配蛋白结合）和 neuropilin 受体（与 semaphorin 结合），因此能对后部生骨节细胞上的肝配蛋白和 semaphorin 蛋白产生应答（Wang and Anderson 1997；Krull et al. 1999；Kuan et al. 2004）。通过这种方式，图式化神经嵴细胞迁移的相同信号也调节脊髓神经元生长的图式。

在整个动物界，semaphorin 一般通过选择性排斥来引导生长锥的生长。当轴突必须改变方向时，它们在强制轴突“转弯”时尤为重要。例如，semaphorin-1 是一种跨膜蛋白，表达在发育过程中的昆虫肢上的一个上皮细胞带。这个蛋白质抑制 Ti1 感觉神经元的生长锥向前运动，从而使它们转向（**图 15.30**；Kolodkin et al. 1992，1993）。在果蝇中，单个的大胸肌分泌 semaphorin-2 蛋白。通过这样的方式，胸肌就能防止自身被不正确的轴突支配（Matthes et al. 1995）。

Semaphorin-3 家族的蛋白质也被称为脑衰蛋白（collapsin），见于哺乳类和鸟类。这些分泌的蛋白质使来自背根神经节的轴突生长锥萎陷（Luo et al. 1993）。在背根神经节中有几种类型的神经元，它们的轴突进入脊髓背部。大多数这样的轴突被阻止进一步延伸，因而不能进入脊髓腹部；然而，它们中的一

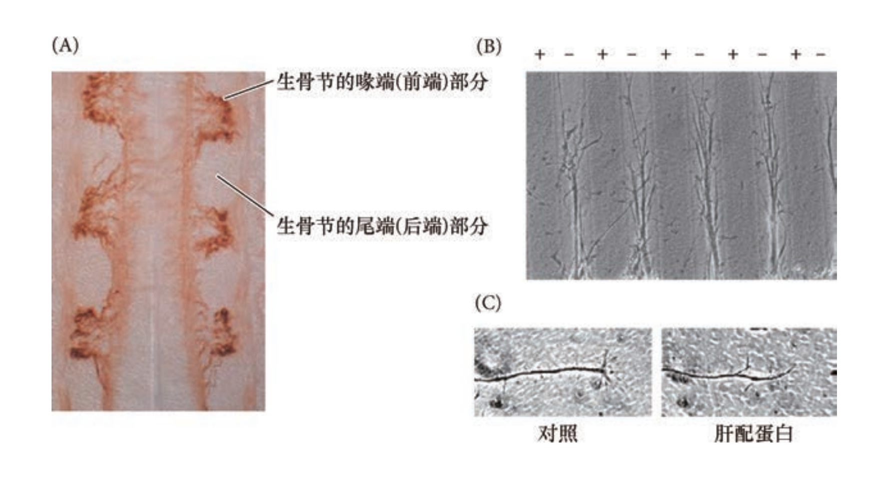


图 15.29　背根神经节生长锥的排斥。(A) 运动神经元轴突迁移经过每个生骨节的前部区室，而不经过尾部区室。(B) 在体外实验中将肝配蛋白的条纹铺在层粘连蛋白的表面。运动神经元轴突只在没有肝配蛋白的位置生长。(C) 孵育 10 min 后，肝配蛋白对生长锥的抑制。左侧照片显示对照生长锥接触类似（但不具抑制性）的化合物；右侧照片的轴突接触后部体节中的肝配蛋白（来自 Wang and Anderson 1997，由作者提供）。

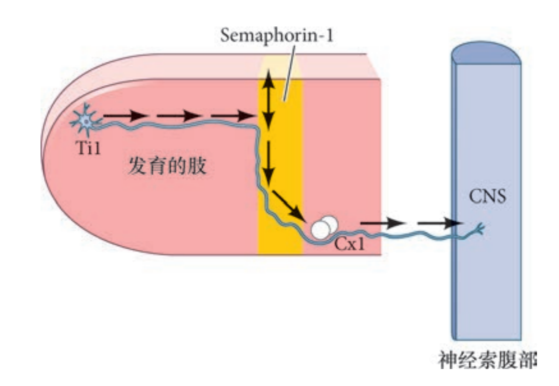
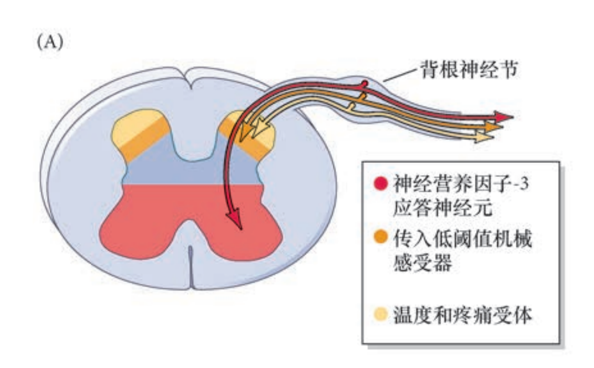
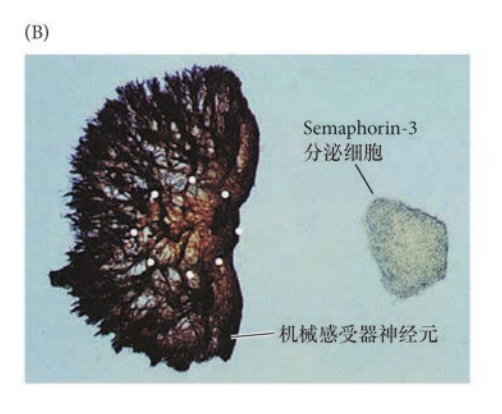


图 15.30 Semaphorin-1 在蚱蜢肢发育中的作用。感觉神经元 Ti1 的轴突向中枢神经系统（CNS）投射（箭代表途径中的连续步骤）。当轴突接触表达 semaphorin-1 的上皮细胞带时，它重新确定生长锥的方向，沿着表达 semaphorin-1 的细胞的远端边界向腹部延伸。当它的丝足连接到一对 Cx1 细胞时，生长锥跨越边界并投射到中枢神经系统。当 semaphorin-1 被抗体阻断时，生长锥随机搜寻 Cx1 细胞。（参考 Kolodkin et al. 1993）。

部分确实能经过其他神经细胞向腹部延伸（**图 15.31**）。与其他神经元的轴突不同，这些特定的轴突不受 semaphorin-3 的抑制（Messersmith et al. 1995）。这一发现表明，semaphorin-3 通过选择性排斥一些轴突而图式化背部神经节中的感觉投射，使得它们终止于背部。在脑中也可以看到类似的机制，表达在一个区域的 semaphorin 阻止来自另一个区域的神经元的投射（Marín et al. 2001）。

在某些情况下，肝配蛋白和 semaphorin 也能作为吸引物。例如，semaphorin-3A 对于哺乳动物皮质的锥体神经元轴突是一个经典的斥化物，然而，它却是相同细胞的树突的趋化物。通过这种方式，一个目标就可以接触这些细胞的树突而不会吸引它们的轴突（Polleux et al. 2000）。





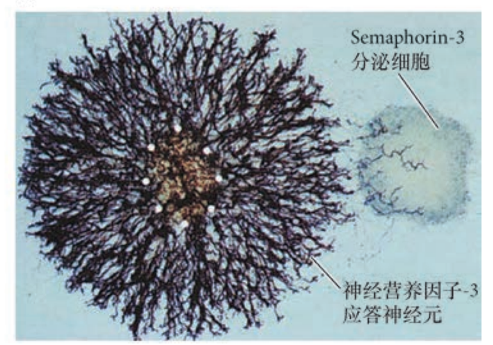


图 15.31 Semaphorin-3 作为轴突向脊髓腹部投射的选择性抑制物。（A）在第 14 天的大鼠胚胎脊髓中 semaphorin-3 的表达与轴突轨迹的关系。对神经营养因子 -3（NT3）产生应答的神经元迁移到脊髓的腹部区域，但是机械感受器，以及温度和疼痛受体神经元的传入轴突终止在背部。（B）分泌 semaphorin-3 的转基因鸡成纤维细胞抑制机械感受器轴突的生长。这些轴突在含有神经生长因子（NGF）的培养基中生长，虽然神经生长因子能够刺激轴突生长，但这些轴突向 semaphorin-3 源头的生长仍然受到抑制。（C）与神经营养因子 -3 共同培养时，对这个因子产生应答的神经元向 semaphorin-3 源头的延伸不被抑制（A 图参考 Marx 1995；B 图和 C 图来自 Messersmith et al. 1995，由 A. Kolodkin 提供）。

15.2.4 轴突如何穿过了路径？

Santiago Ramóny Cajal（1892）首次提出了趋化信息在发育的中枢神经系统中导向轴突的观点。他认为，一些扩散性分子可能会指令脊髓的连合神经元从神经管的背部位置向腹部底板发出轴突。连合神经元协调左右两侧的运动神经元活动。要做到这一点，它们必须迁移到（并经过）腹中线。连合神经元的轴突最初在神经管的侧部向腹部生长。然而，下行大约 2/3 之后，轴突改变方向，经过神经管的腹外侧（运

动）神经元区域向底板细胞投射（**图 15.32**）。

可能有两个系统将背部连合神经元的轴突吸引至腹中线。首先是 Sonic hedgehog（Shh）蛋白，它启动连合神经元向腹部迁移（回顾第 13 章，Shh 作为一个形态发生素对图式化细胞命运的重要性；见图 13.19 和图 4.30）。Shh 由神经管底板细胞合成并分泌出来，以一个浓度梯度的方式分布，即腹部高而背部低。如果 Shh 信号的转导被环巴胺（Smoothened 的一个抑制物；Smoothened 是 Shh 的主要转导物）所抑制，或者在连合神经元中条件性敲除 Smoothened，连合轴突就难以到达腹部中线和转向中线（Charron et al. 2003）。然而，Shh 信号转导似乎是通过另一种受体——Brother of Cdo（Boc），以一种非经典的方式导向连合轴突，并且独立于 Gli 介导的转录调节（见图 4.30；Okada et al. 2006；Yam et al. 2009）。另外，Shh 的梯度缺失后并不阻断所有向中线穿越的连合轴突，这说明其他因子也参与连合轴突的导向。

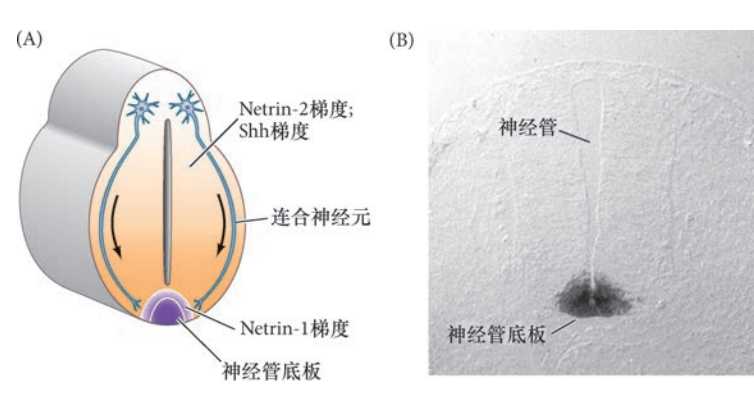
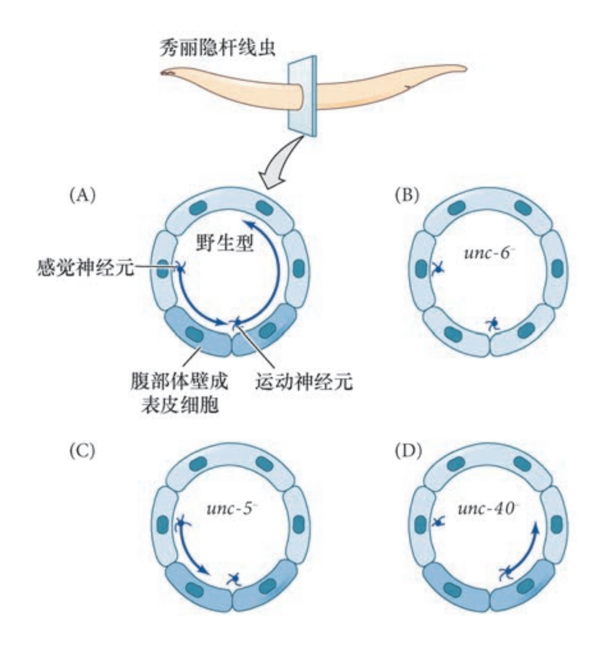


图 15.32　大鼠脊髓中连合轴突的轨迹。（A）一个模型的示意图。连合神经元首先接触 Sonic hedgehog 和神经轴突导向因子 -2（Netrin-2）的梯度，然后接触一个急剧的神经轴突导向因子 -1（Netrin-1）梯度。连合轴突沿脊髓的侧部被趋化性地导向至腹部底板。到达底板后，来自底板细胞的接触导向使轴突改变方向。（B）通过反义 RNA 的原位杂交，放射自显影显示年轻大鼠胚胎后脑中神经轴突导向因子 -1 的 mRNA（暗色区域）表达在底板神经元（B 图来自 Kennedy et al. 1994，由 M. Tessier-Lavigne 提供）。

神经轴突导向因子　1994 年，Serafini 及其同事建立了一种分析方法，使得他们能够筛选可能参与导向连合神经元的扩散性分子。如果将鸡胚胎脊髓背部的移植物放置到胶原蛋白凝胶上，移植物附近神经管底板细胞的存在能促进连合轴突的生长。Serafini 及其同事在胚胎脑匀浆的一些组分中检测是否有一些蛋白质可以模拟移植物的活性。这个研究使他们分离和鉴定出两种蛋白质：**神经轴突导向因子 -1（netrin-1）**和**神经轴突导向因子 -2（netrin-2）**。与 Shh 一样，神经轴突导向因子 -1 由神经管底板细胞表达并分泌，而神经轴突导向因子 -2 则在脊髓的下部区域合成，但不是神经管底板（见图 15.32B）。连合神经元可能首先接触神经轴突导向因子 -2 和 Shh 的梯度，这将它们带到神经轴突导向因子 -1 的急剧梯度区域。神经轴突导向因子被结直肠癌缺失蛋白（DCC）和唐氏综合征细胞黏附分子（DSCAM）所识别，这是一些表达在连合轴突生长锥的受体分子（Liu et al. 2009）。

虽然它们是可溶性分子，但是这两种神经轴突导向因子都与细胞外基质缔合 [11]。像非洲爪蛙视网膜神经元中的情况一样，这种缔合能发挥重要作用，可以将神经轴突导向因子的影响从吸引作用变成排斥作用（Hopker et al. 1999）。神经轴突导向因子蛋白的结构中有很多与 UNC-6 同源的区域，而 UNC-6 是线虫中指引轴突在体壁周围迁移的蛋白质。在野生型线虫中，UNC-6 诱导一些位于中央的感觉神经元的轴突向腹部移动，同时诱导位于腹部的运动神经元向背部延伸出轴突。在 *unc-6* 功能缺失的突变中，这两种迁移都不能发生（Hedgecock et al. 1990；Ishii et al. 1992；Hamelin et al. 1993）。*unc-40* 基因的突变干扰腹部（而非背部）轴突的迁移，而 *unc-5* 基因的突变仅阻止背部迁移（**图 15.33**）。遗传和生化证据表明，UNC-5 和 UNC-40 是 UNC-6 受体复合物的一部分，UNC-5 能将 UNC-40 介导的吸引作用转变成排斥作用

[11] 大自然不一定认同人类建立的一些类别。一个可溶性因子与细胞外基质的结合在 *chemotaxis*（趋化性，向一个特定化学物质的运动）和 *haptotaxis*（趋触性，沿一个偏好基质的迁移）之间造成了一个很有意思的模糊性。*Neurotropic*（亲神经）和 *neurotrophic*（神经营养）之间也有一些混淆。*Neurotropic*（拉丁文，*tropicus*，“一个转向运动”）意味着有某种东西吸引神经元。*Neurotrophic*（希腊语，*trophikos*，“护理”或“滋养”）指的是一种因素维持神经元存活的能力，通常是通过提供一些生长因子。因为很多因素都具有这两种性质，所以它们既被称为 *neurotropins*（亲神经素），也被称为 *neurotrophins*（神经营养因子）。在最近的文献中，神经营养因子似乎被更广泛地使用。



拓展性问题

你已经了解到 Shh 在一定程度上将连合轴突吸引到神经管底板。其他经典的形态发生素是否也有同样的作用？源于神经管背部的骨形态发生蛋白能否影响背腹寻径，或者，在神经管中以前后梯度的方式表达的 Wnt 蛋白能否影响纵向的轴突导向？

图 15.33 UNC 蛋白在轴突导向过程中的表达和功能。(A) 在野生型线虫胚胎的体内，感觉神经元向腹部投射，运动神经元向背部投射。深色显示表达 UNC-6 的腹部体壁成表皮细胞。(B) 在 *unc-6* 突变体（*unc-6*⁻）胚胎中，这两种迁移都不能发生。(C) *unc-5* 基因功能缺失的突变（*unc-5*⁻）仅影响运动神经元向背部运动。(D) *unc-40* 基因功能缺失的突变（*unc-40*⁻）仅影响感觉生长锥向腹部迁移（参考 Goodman 1994）。

(Leonardo et al. 1997；Hong et al. 1999；Chang et al. 2004)。

科学研究可以互惠。正如对脊椎动物神经轴突导向因子基因的研究使人们发现了线虫的同源物一样，对线虫 *unc-5* 基因的研究也使人们发现了编码哺乳动物神经轴突导向因子受体的基因。这个基因在小鼠中的突变引起一种称为延髓小脑畸形的疾病（Ackerman et al. 1997；Leonardo et al. 1997）。类似地，“神经轴突导向因子 DCC”（“netrin DCC”）受体是通过对癌症相关的突变基因的分析获得名称的，并从“*d*eleted in *c*olorectal *c*ancer”（在结直肠癌中缺失）获得其缩写。

最近，**血管内皮生长因子**（**Vegf**）被确认为第三种中线吸引物，它与 Shh 和神经轴突导向因子协同作用，将连合轴突向腹内侧引导至神经管底板。此外，一些体外研究显示，所有这三种吸引物都可能参与 **Src 家族激酶**（**Src family kinase，SFK**）信号转导以介导生长锥的应答（Li et al. 2004；Meriane et al. 2004；Yam et al. 2009；Ruiz de Almodovar et al. 2011）。如果未来的体内研究能揭示 Src 家族激酶对连合轴突穿越中线的时空作用，这将是一件令人振奋的事情。

Slit 和 Robo 要使轴突穿过中线，并在对侧（神经元胞体所在的中枢神经系统的相反一侧）远离中线生长，这似乎需要一种排斥性信息作为驱动力。一组重要的斥化分子是一些 **Slit 蛋白**，由中线细胞表达和分泌（Neuhaus-Follini and Bashaw 2015；Martinez and Tran 2015 综述）。在果蝇中，Slit 蛋白被神经索中线的胶质细胞分泌出来，它能阻止大多数轴突从任何一侧穿过中线。**Roundabout**（**Robo**）**蛋白**（Robo1[12]、Robo2 和 Robo3）是 Slit 蛋白的受体（Rothberg et al. 1990；Kidd et al. 1998；Kidd et al. 1999）。在果蝇中，寻径神经元的生长锥中的 Robo 受体能防止轴突迁移穿过中线，根据生长锥所表达的 Robo 受体的不同组合，这些受体能指令纵向束[13]相对于中线在侧部定位（Rajagopalan et al. 2000；Simpson 2000；Bhat 2005；Spitzweck et al. 2010）。Slit 的缺失或 Robo1 和 Robo2 的同时缺失使适当的轴突不能穿越中线，以至于轴突生长到中线，然后穿越，再穿越，并一直沿着中线平行延伸（**图 15.34**）。基于以上及其他结果给出了一个模型，从中线的一侧穿越到另一侧的连合神经元在接近中线时通过下调 Robo1/2 蛋白来暂时避免这种排斥。一旦生长锥穿越胚胎的中部，神经元在生长锥上重新表达 Robo，再次对 Slit 蛋白的中线抑制作用变得敏感（Brose et al. 1999；Kidd et al. 1999；Orgogozo et al. 2004）。

---

[12] 尽管传统上果蝇中的 Roundabout1 被简称为 Robo（没有数字 1），为了避免混淆，我们在本文中将其称为 Robo1。

[13] 中枢神经系统中的轴突途径被称为“束”（*tracts*），周围神经系统中的轴突途径被称为“神经”（*nerves*）。

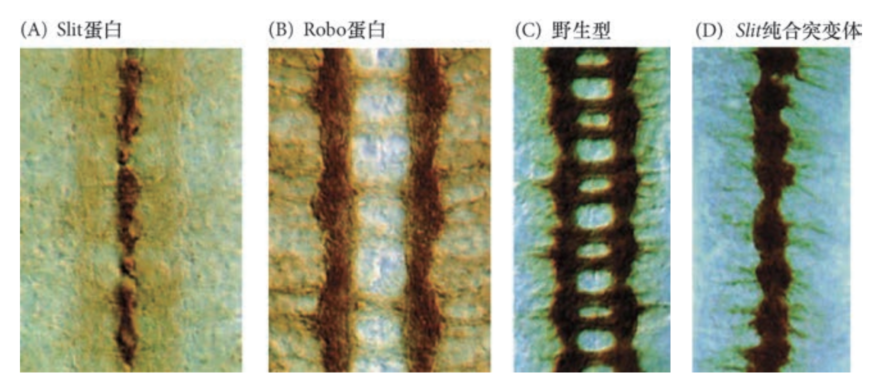


图 15.34 Robo/Slit 对神经元穿越中线的调节。果蝇中枢神经系统的 Robo 和 Slit。(A) 抗体染色显示中线胶质细胞中的 Slit 蛋白。(B) Robo 蛋白沿中枢神经系统轴突支架的纵向束神经元表达。(C) 野生型中枢神经系统轴突支架显示穿过中线的神经元的梯状排列。(D) 在 Slit 功能缺失的突变体中，用染色所有中枢神经系统神经元的抗体标记中枢神经系统轴突支架显示，轴突进入但未能离开中线（取而代之的是沿着中线而行）（来自 Kidd et al. 1999，由 C. S. Goodman 提供）。

在果蝇中，应答反应中的机制变化受一个称为无连合蛋白（commissureless，Comm）的内体蛋白控制，该蛋白质仅在穿越前的轴突中表达，并将 Robo 蛋白误导至溶酶体而不是使它们在膜上表达。在果蝇中，这种蛋白质的内体运输机制比调节 *robo* 基因的表达能使穿越中线的连合轴突的应答性产生更快的变化（**图 15.35**；Keleman et al. 2002，2005；Yang et al. 2009）。

脊椎动物也使用 Slit 和 Robo 信号进行中线排斥，但是生长锥应答性的转换在穿越前和穿越后的轴突中有所不同。脊椎动物有多个 Slit（1 ～ 3）和 Robo（1 ～ 4）蛋白，其中 Robo3 具有两种异构体（Robo3.1 和 Robo3.2），它们分别表达在穿越中线前和穿越过中线后的轴突（Mambetisaeva et al. 2005）。神经元向中线延伸轴突时，那些将保持在身体同侧（即神经元的胞体所在中枢神经系统的同一侧）的轴突表达 Robo1 和 Robo2，因此它们被 Slit 排斥，而不能穿越中线（见图 15.38）。然而，表达 Robo3.1 的轴突却能够穿过中线。虽然详细的机制尚不清楚，但有研究表明 Robo3.1 能活跃地促进中线穿越，因为敲低 Robo3.1 导致连合神经元不能穿过中线。一旦连合神经元的生长锥越过中线，它就会下调 Robo3.1，并上调 Robo1.2 和 Robo3.2，这两个蛋白质阻止生长锥重新穿过中线，并使 Slit 完全行使斥化物的功能，使得生长锥远离中线（见图 15.35，小鼠；Long et al. 2004；Sabatier et al. 2004；Woods et al. 2004；Chen et al. 2008）。

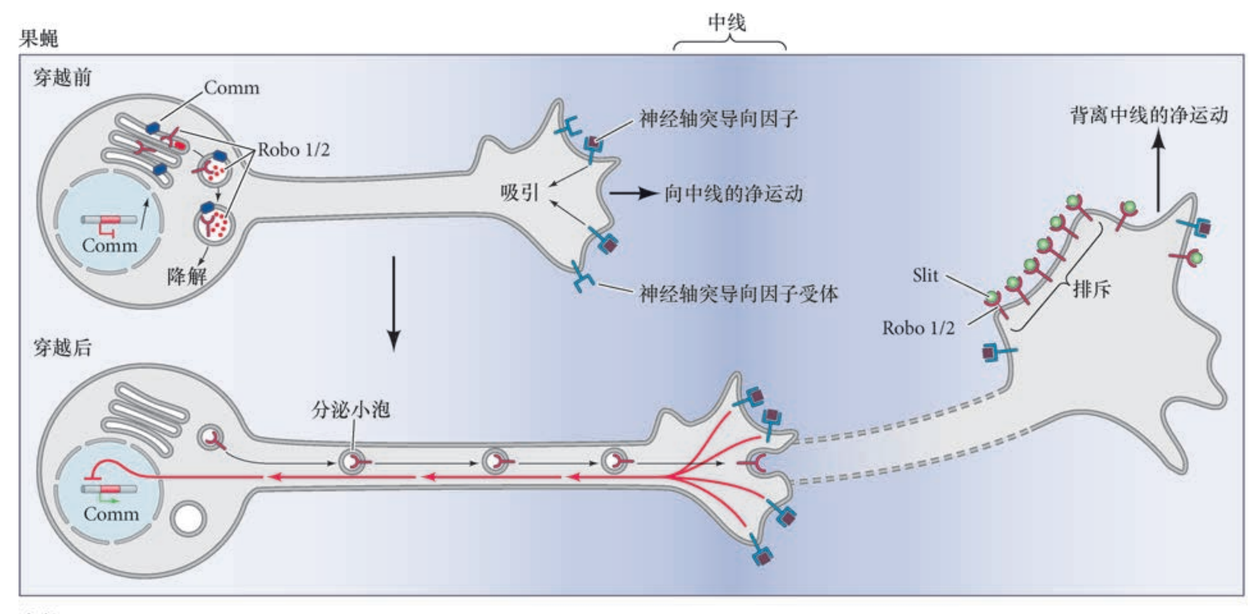
拓展性问题

在中线穿越过程中 Robo3 的可变剪接是如何受时间调节的？而且，Robo3.1 和 Robo 3.2 如何介导中线吸引和随后的排斥？

除了 Robo3.1 的下调之外，改变神经元对 Shh 梯度的解读能增强中线位置的生长锥应答性的变化。穿越中线后的轴突上调 14-3-3 蛋白，它通过蛋白激酶 A 使生长锥将 Shh 的吸引性解读成排斥性（见图 15.35；Yam et al. 2012）。因此，Slit-Robo 和 Shh 信号对穿越中线前和穿越中线后轴突的精确时空调节使得神经连合形成。人的 *ROBO3* 基因的突变干扰轴突从脑髓质的一侧到另一侧的正常穿越（Jen et al. 2004）。除了其他异常以外，携带这种突变的人不能协调他们的眼球运动。

科学家讲座 15.4 Marc Tessier-Lavigne 博士讲述关于 Sonic hedgehog 在小鼠脊髓中作为中线吸引物的原创性鉴定。

网络话题 15.5 **趋化性的早期证据** 在具备分子技术之前，研究人员使用移植实验和智慧来揭示目标组织释放一些趋化性分子的证据。



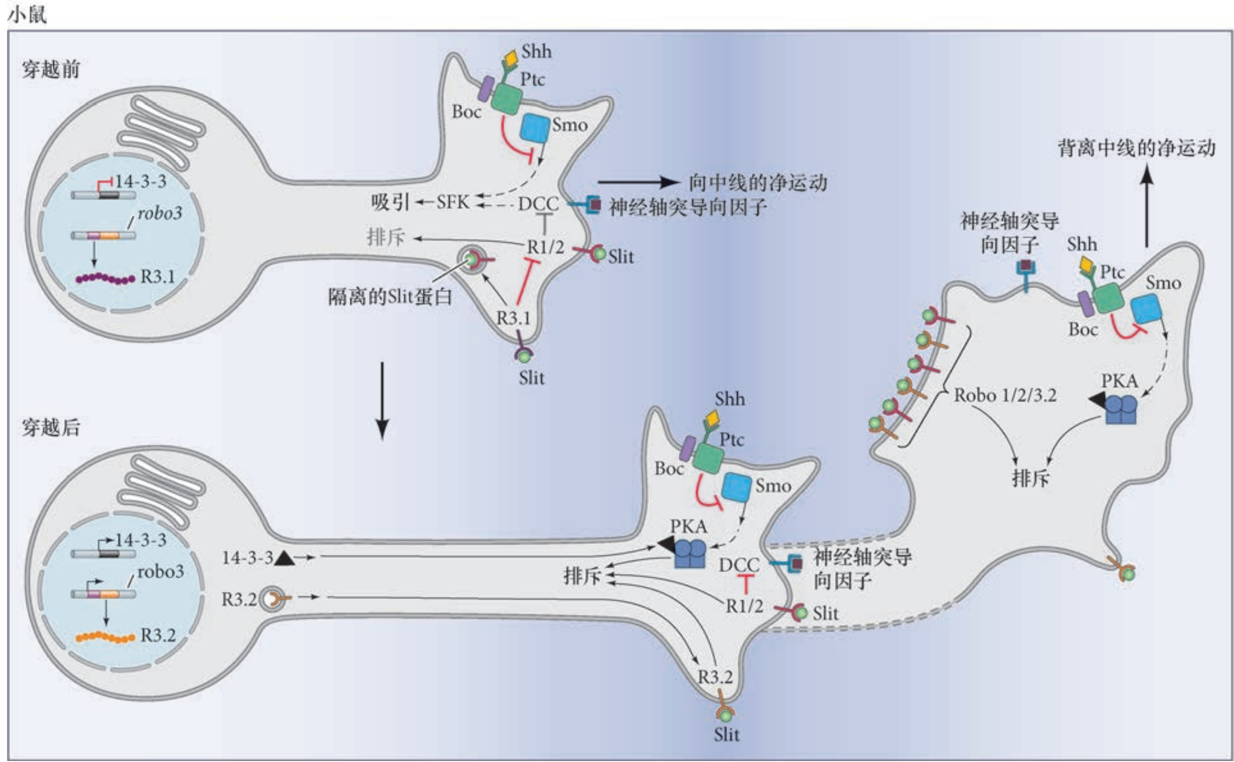


图 15.35 果蝇和小鼠中连合神经元穿过中线的轴突导向模型。图中显示位于果蝇腹神经索（上部）或小鼠神经管（下部）左半球的单一连合神经元。Slit-Robo 信号转导介导排斥作用。神经轴突导向因子和 Shh 分别通过它们的 Frazzled/DCC 和 Ptc-Boc-Smo 受体复合物在中线处吸引穿越前的连合轴突。在穿越中线后的轴突中，14-3-3 蛋白的表达上调，进而通过影响 Shh 信号下游的蛋白激酶 A（PKA）来改变轴突对 Shh 的应答性。在果蝇中，由于无连合蛋白（Comm）将 Robo 受体重新分配到溶酶体而进行降解，穿越中线前的轴突对 Slit 的排斥信息基本没有反应。然而，一旦到达中线，神经轴突导向因子与其受体 Frazzled 的结合所增强的信号触发无连合蛋白的下调。然后 Robo 蛋白表达在生长锥，进而恢复 Slit 介导的排斥作用，使得轴突不会再次穿越。在脊椎动物中，Robo1/2（R1/2）受体能抑制神经轴突导向因子与其受体结直肠癌缺失蛋白（DCC）的结合；因此，在穿越中线前的轴突中，通常需要降低这种抑制和 Slit-Robo 的排斥作用。Robo3.1（R3.1）异构体可能抑制 Robo1/2 的作用，从而使神经轴突导向因子能够发挥吸引作用。而且，Robo3.1 也可能竞争性地隔离 Slit，但没有直接的下游导向结果，这可以减少可用于结合 Robo1/2 的 Slit。然而，在穿越中线后的轴突中，Robo3.2（R3.2）异构体被上调，Robo3.1 异构体缺失。Robo3.2 的功能似乎类似于经典的 Slit 排斥物。SFK：Src 家族激酶。

15.2.5　视网膜神经节轴突的延伸

几乎所有在本章中提及的调节神经元特化和轴突特异性的机制也见于单个视网膜神经元向脑的视觉加工区延伸轴突的过程。尽管存在一些差异，但是视网膜发育和轴突导向在脊椎动物中却非常保守。即使是建立神经元的视网膜神经节层的策略也与整个脑神经上皮的特化具有显著的相似性。例如，视网膜神经节细胞（RGC）最初被经典 Sonic hedgehog 信号的时空作用所图式化。这个信号途径可能主要调节视网膜神经节细胞的数量（Neumann and Nuesslein-Volhard 2000；Zhang and Yang 2001；Dakubo et al. 2003；Wang et al. 2005；Sánchez-Arrones et al. 2013）。此外，视网膜中神经元和胶质细胞之间的命运选择似乎受控于 Notch-Delta 的功能，Notch 信号促进胶质细胞命运，但却抑制神经元细胞特征（Austin et al. 1995；Dorsky et al. 1995；Ahmad et al. 1997；Dorsky et al. 1997；Furukawa et al. 2000；Jadhav et al. 2006；Yaron et al. 2006；Nelson et al. 2007；Luo et al. 2012）。最后，与运动神经元中的情况一样，LIM 家族的转录因子（如 Islet-2）差异性地表达在发育的视网膜神经节层，特化细胞命运，最终决定了生长锥的受体组分，将轴突寻径导向至视顶盖（Bejarano-Escobar et al. 2015 综述）。

15.2.5.1　视网膜神经节轴突向视神经的生长

使视网膜神经节细胞的轴突进入视顶盖特定区域的第一步发生在视网膜（视杯的神经视网膜）。随着视网膜神经节细胞的分化，它们在视网膜内缘的位置受控于它们细胞膜上的钙黏着蛋白分子，即神经钙黏素和视网膜特异性钙黏着蛋白（Matsunaga et al. 1988；van Horck et al. 2004）。视网膜神经节细胞的轴突沿视网膜的内表面向视盘（视神经的头部）生长。成年人的视神经含有 100 多万个视网膜神经节轴突。

视网膜内导向　视网膜神经节轴突沿视网膜内表面的黏附和生长可能受控于视网膜内的层粘连蛋白基底层。胚胎的晶状体和视网膜边缘分泌一些抑制因子（可能是硫酸软骨素蛋白聚糖），排斥视网膜神经节细胞的轴突，阻止它们向错误的方向延伸（**图 15.36**；Hynes and Lander，1992；Ohta et al. 1999）。神经细胞黏附分子在这一过程中也可能特别重要，因为视网膜神经节生长锥的定向迁移取决于视网膜内表面

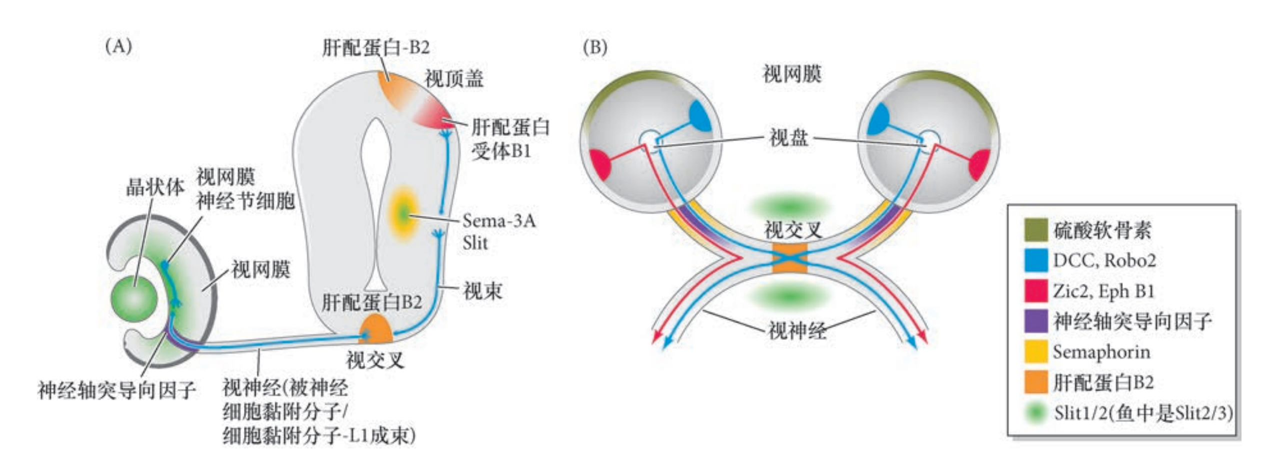


图 15.36　多种轴突导向信息指引视网膜神经节细胞轴突向视顶盖运动。神经轴突导向因子、Slit、semaphorin 和肝配蛋白家族的导向分子沿着迁移途径在多个位置的离散区域表达，引导视网膜神经节细胞生长锥。视网膜神经节细胞轴突很可能被硫酸软骨素在视网膜外围排斥。在视盘，轴突被神经轴突导向因子 / 结直肠癌缺失蛋白介导的吸引所导向，离开视网膜并进入视神经。一旦进入视神经，轴突被抑制性相互作用维持在这个途径中。视交叉中的 Slit 蛋白建立一些抑制的区域。在腹颞部视网膜中，表达 Zic2 的神经节投射表达肝配蛋白 B1 的轴突，这些轴突在视交叉的位置被肝配蛋白 B2 排斥，从而终止在同侧（相同的一侧）的目标。来自视网膜内侧部分的神经元不表达肝配蛋白受体 B1（Eph B1），因而进入相反的一侧（对侧）。（A）横截面。（B）背部图。图中并没有显示所有的导向信息（A 图参考 van Horck et al. 2004；B 图参考 Harada et al. 2007）。

上表达神经细胞黏附分子的神经胶质终足（Stier and Schlosshauer 1995）。在小鼠视网膜中，视网膜神经节细胞表达 Robo1 和 Robo2 受体，而 Slit 在神经节层和晶状体上皮均有表达。在视网膜神经节细胞轴突的视网膜内寻径过程中对 Slit 和 Robo 的功能分析表明，Slit 和 Robo2 能将视网膜神经节细胞轴突从视网膜排斥出去（Niclou et al. 2000；Thompson et al. 2006，2009）。视盘（轴突组装形成视神经的位置）细胞分泌的神经轴突导向因子 -1 也在这个迁移中发挥作用。在小鼠中，缺失神经轴突导向因子 -1 的基因或神经轴突导向因子受体的基因（表达在视网膜神经节轴突）导致视神经的发育不良，这是因为很多轴突不能离开眼睛，而是围绕视盘随机生长（Deiner et al. 1997）。神经轴突导向因子在眼的不同部分可能具有不同功能。在视神经入口处，神经轴突导向因子 -1 与视网膜表面的层粘连蛋白共表达。层粘连蛋白将神经轴突导向因子的吸引性信号转换成排斥性信号。这种排斥可能将生长锥“推”离视网膜表面，使其进入视神经的头部，这一位置表达神经轴突导向因子而不表达层粘连蛋白（Mann et al. 2004；见图 15.36A）。

当它们到达视神经时，迁移的轴突与已经在那里的轴突成束（形成一束）。神经细胞黏附分子和细胞黏附分子 -L1 对这种成束有至关重要的作用，抑制细胞黏附分子 -L1 或神经细胞黏附分子的抗体导致轴突以无序的方式进入视神经，进而使它们在错误的位置上出现在视顶盖（Thanos et al. 1984；Brittis et al. 1995；Yin et al. 1995）。

15.2.5.2 视网膜神经节轴突经过视交叉的生长

在非哺乳类脊椎动物中，视网膜神经节细胞轴突的最终目的地是一个称为视顶盖的脑区域，而哺乳动物视网膜神经节细胞轴突则前往外侧膝状体核。在很多位置，视网膜神经节细胞轴突在脑内的延伸发生在星形胶质细胞的基质上。当轴突进入视神经时，它们在星形胶质细胞上向中脑生长（Bovolenta et al. 1987；Marcus and Easter 1995；Barresi et al. 2005）。层粘连蛋白似乎促进视交叉的穿越。在进入视顶盖区域的途中，非哺乳类脊椎动物的轴突在胶质细胞形成的一个途径（视神经束）中迁移，这些胶质细胞的表面附着有层粘连蛋白。脑中只有极少数区域含有层粘连蛋白，并且这个途径的层粘连蛋白只有视神经纤维正在其上生长的时候才存在（Cohen et al. 1987）。

离开眼后，视网膜神经节细胞轴突似乎在神经轴突导向因子的表面生长，并且在各个方向上被 semaphorin 包围，这样就能通过排斥性信息将轴突维持在它们的途径上（见 Harada et al. 2007）。进入脑后，哺乳动物的视网膜神经节细胞轴突到达视交叉，在那里它们必须“决定”是继续直行还是转向 90° 进入脑的另一侧。视交叉处不再有 semaphorin，但是 Slit 蛋白接管了它们的功能，建立一个轴突必须穿过的走廊（垂直于中线），阻止轴突在视交叉位置以外的不正确延伸。因此，虽然视交叉出现在中线，但与脊髓腹部中线相比，它使用了一个截然不同的 Slit 介导的排斥策略（见图 15.35）。与视网膜中的情况一样，Robo2 似乎是前脑腹部视网膜神经节细胞导向的主要介导物，而这时的前脑腹部是视交叉正在形成的位置（见图 15.36B）。

在鱼类，所有视网膜神经节细胞轴突在视交叉处穿越到对侧，但在哺乳动物，一部分视网膜神经节细胞轴突仍然保持在同侧。这样看来，那些注定不穿越到脑另一侧的轴突在进入视交叉时是因为受到了排斥才不能穿越（Godement et al. 1990）。这种排斥似乎受视交叉细胞所表达的肝配蛋白和 Shh 的影响。中线信息被肝配蛋白受体和 Boc 受体解读，而这两个受体仅在同侧投射的视网膜神经节细胞上表达（Cheng et al. 1995；Marcus et al. 2000；Fabre et al. 2010）。

在小鼠的眼中，肝配蛋白受体 -B1 表达在被视交叉的肝配蛋白 -B2 所排斥的那些颞叶轴突，以及那些向眼同侧视顶盖投射的轴突；能够跨越视交叉的轴突几乎不表达肝配蛋白受体 B1。缺失这个基因的小鼠几乎没有任何同侧投射。肝配蛋白受

拓展性问题

视网膜神经节细胞轴突似乎在它们的整个旅途中都与星形胶质细胞接触。这种神经元与神经胶质细胞相互作用的意义是什么？哪些特定的分子对促进这种互作很重要？

体 -B1 基因的这种表达图式似乎受 Zic2 转录因子调节，而 Zic2 则表达在形成同侧投射的那些视网膜轴突（Herrera et al. 2003；Williams et al. 2003；Pak et al. 2004）。此外，缺失 Shh 的另一受体（即 Boc）使通常保持在同侧的特定视网膜神经节细胞异常地进行对侧寻径。而且，在典型的对侧轴突中异位表达 Boc 导致这些轴突只在同侧投射（Fabre et al. 2010）。这些结果说明，肝配蛋白受体 B1/ 肝配蛋白 B2 和 Boc/Shh 是决定穿越或不穿越前脑中线的主要调节物。

肝配蛋白在蛙的视网膜顶盖映射中似乎有类似的作用。在发育过程的蛙中，腹侧的轴突表达肝配蛋白受体 B，而背侧的轴突不表达这一受体。在变态前，两种轴突都穿越视交叉。然而，当蛙的神经系统在变态过程中被重塑时，视交叉开始表达肝配蛋白 B，导致一个亚群的腹侧细胞被排斥，因而只能投射到同一侧而不能穿过视交叉（Mann et al. 2002）。这种排列使蛙有双目视觉，非常有利于蛙以舌捕蝇。

15.2.6 目标选择："我们到达目的地了吗"

在某些情况下，同一神经节的神经能有多个不同的目标，神经元如何知道与哪个细胞形成突触？将生长锥导向至目标组织的配体 - 受体特异性的普遍机制首先是在最终目的地发挥一个细化的作用。同一神经节的不同神经元能具有不同的受体，对一些信息产生应答而对其他信息不产生应答。一旦一个神经元接触一组含有它的潜在目标的细胞时，它就会应答目标细胞产生的各种蛋白质[14]。吸引和排斥力量共同将轴突引导到正确的最终"停车位"。如我们将要看到的视网膜神经节细胞那样，排斥性蛋白（如肝配蛋白）的表达量对于特定的神经元到达特定的目标可能非常关键（Gosse et al. 2008）。那么，将轴突导向至正确位点的一些重要信号是什么？

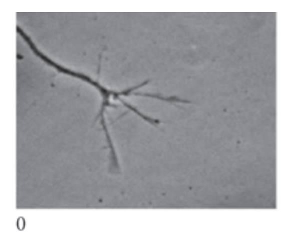
15.2.6.1 趋化蛋白

内皮缩血管肽 颈上神经节（颈部最大的神经节）中的一些神经元直接延伸到颈动脉，而来自相同神经节的其他神经元则不然。从颈上神经节延伸到颈动脉的那些轴突似乎跟随着也向颈动脉延伸的血管。这些血管分泌一种小肽，称为**内皮肽**或**内皮缩血管肽**（**endothelin**）。除了在成年起收缩血管的作用之外，内皮肽似乎对胚胎发育也有作用，因为它们能够引导一些神经嵴细胞（如进入肠的那些细胞），以及一些膜上具有内皮肽受体的交感神经轴突的迁移（Makita et al. 2008）。

网络话题 15.6 **骨形态发生蛋白 -4 与三叉神经节神经元** 源于三叉神经节中的神经元轴突束支配眼区和上下颌。来自目标器官的骨形态发生蛋白 -4 为这些轴突导向。

神经营养因子 一些目标细胞产生一组统称为**神经营养因子**的趋化蛋白。它们包括**神经生长因子**（**nerve growth factor，NGF**）、**脑源性神经营养因子**（**brain-derived-neurotrophic factor，BDNF**）、**保守型多巴胺神经营养因子**（**conserved dopamine neurotrophic factor，CDNF**）和**神经营养因子 -3、-4/5**（**neurotrophin 3，NT3，NT4/5**）。这些蛋白质从潜在的目标组织中释放出来，作为趋化因子或斥化因子在短距离内发挥作用（Paves and Saarma 1997）。每个因子都可以促进和吸引一些轴突向这个因子的源头生长，同时抑制其他轴突。例如，大鼠背根神经节的感觉神经元能被神经营养因子 -3 吸引（**图 15.37**），但却被脑源性神经营养因子抑制。神经营养因子可能是从轴突生长锥被转运到神经元的胞体。例如，来源于脑海马的神经生长因子结合前脑底部神经元轴突上的受体，被内吞进入这些神经元。然后，它被运输到神经元细胞体，刺激基因的表达。*App* 基因（21 号染色体上编码一种非淀粉样前体蛋白的基因）在唐氏综合征和阿尔茨海默病患者中的表达上调。升高的 App 蛋白阻断神经生长因子从轴突到细胞体的逆向转

[14] 在整个发育生物学中都可以看到，"目标"的隐喻是不准确的。在这里，目标不是一个被动的实体，而是一个重要的活跃实体。



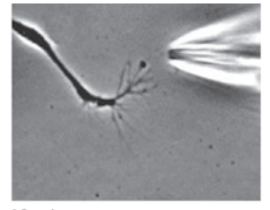


图 15.37 大鼠胚胎背根神经节的轴突向神经营养因子 -3 的源头转向。这两个照片记录了生长锥在 10 min 内的转向。相同的生长锥对其他神经营养因子不敏感（来自 Paves and Saarma 1997，由 M. Saarma 提供）。

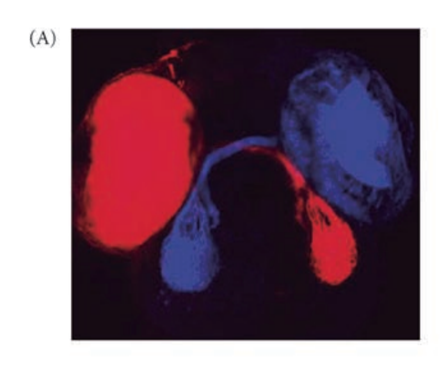
运，影响细胞膜上神经生长因子受体的敏感性和定位（Salehi et al. 2006；Matrone et al. 2011）。因此，很多研究聚焦于神经生长因子信号途径在认知障碍治疗中的可能作用。

化学营养因子：质量与数量 轴突与目标的附着可以是“数字模式”或者是“模拟模式”。在“模拟模式”中，不同的轴突识别目标上的相同分子，但这个分子在目标上的数量似乎对于连接的形成至关重要；在鱼类，视网膜神经元向脑视顶盖区的投射可能就是这种情况（Gosse et al. 2008）。在其他情况下，有可能存在高度的分子特异定性（“数字模式”）结合，以至于一些连接是神经元特异的。果蝇中的视网膜神经元可能就是这种情况。唐氏综合征细胞黏附分子具有数千个剪接异构体（见第 3 章），这种多样性能使一个特定的神经元与目标神经元产生高度特异的识别（Millard et al. 2010；Zipursky and Sanes 2010）。鉴于神经连接的复杂性，质和量的信息有可能都被使用。生长锥并不是依赖于一个单一类型的分子来识别它们的目标，而是整合了同时存在的吸引性和排斥性信息，基于多种信号的组合输入来选择它们的目标（Winberg et al. 1998）。

15.2.6.2 视网膜轴突的目标选择：“眼见为实”

当视网膜轴突到达层粘连蛋白内衬的视束末端时，它们便开始伸展并在视顶盖寻找特定的目标。利用蛙和鱼类（视网膜神经元从每个眼投射到脑的另一侧）的研究表明，每个视网膜神经节轴突将神经刺激发送到视顶盖内的一个特定位置，即一个细胞或一小组细胞（图 15.38A；Sperry 1951）。蛙脑中有两个视顶盖。来自右眼的轴突与左视顶盖形成突触，而来自左眼的轴突在右视顶盖形成突触。

Marcus Jacobson（1967）详细描述了蛙视网膜与视顶盖的连接图，即**视网膜顶盖投射**（**retinotectal projection**）。他使用一道狭长的光束照射视网膜的一个小的局限区域，然后通过视顶盖上的一个记录电



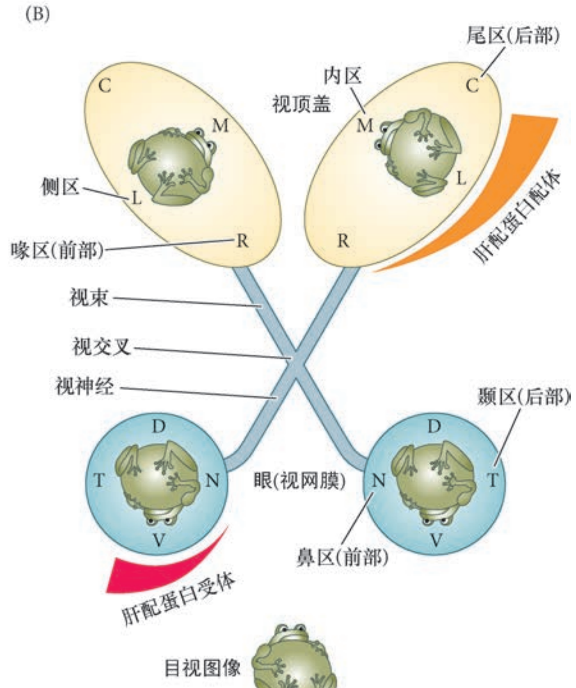


图 15.38 视网膜顶盖投射。（A）在发育到第 5 天的斑马鱼胚胎中轴突进入视顶盖的激光共聚焦显微照片。用琼脂糖包埋斑马鱼胚胎，然后将荧光染料注射到眼中。染料沿轴突扩散，进入每个视顶盖，显示从右眼到左视顶盖的视网膜轴突，反之亦然。（B）成体非洲爪蛙的正常视网膜顶盖投射映像图。右眼支配左视顶盖，左眼支配右视顶盖。视网膜的背区支配视顶盖的侧区。视网膜的鼻区投射到视顶盖的尾区。C：后区；M：内区；L：外区；R：前区；D：背区；V：腹区；N：鼻区；T：颞区（A 图由 M. Wilson 提供；B 图参考 Holt 2002，由 C. Holt 提供）。

极显示受到刺激的视顶盖细胞。**图 15.38B** 显示了非洲爪蛙的视网膜顶盖投射。光照视网膜的腹侧刺激视顶盖侧面的细胞。类似地，将光聚焦在视网膜颞部（后部）刺激视顶盖尾部的细胞。这些研究证明了视网膜细胞和视顶盖细胞之间的点对点对应关系。当一组视网膜细胞被激活时，一小组特定的视顶盖细胞便会受到刺激。而且，这些点是连续的；换句话说，视网膜上的相邻点会投射到视顶盖上的相邻点。这样的排列使蛙能看到一个完整的图像。这种复杂的特异性使得 Sperry（1965）提出了**化学亲和力假说**（**chemoaffinity hypothesis**）：

脑中复杂的神经纤维回路通过使用复杂的化学编码在遗传的控制下进行生长、组装和自身组织。在发育早期，数百万神经细胞获得并在之后保留一些化学性的个体识别标签，以此相互区分和识别。

目前的一些学说没有说明每个轴突与其接触的神经元之间点对点的特异性。相反，有证据表明黏附梯度（特别是那些涉及排斥的梯度）对确定轴突将要进入的区域有一定的作用，并且在这些神经元之间由神经活动驱动的竞争决定了每个轴突的最终连接。

15.2.6.3　视顶盖不同区域的黏附特异性：肝配蛋白和肝配蛋白受体

有很好的证据表明视网膜神经节细胞能识别视顶盖的不同区域。来自鸡胚胎神经视网膜腹侧的细胞选择性地黏附在视顶盖的背侧（内侧）部分，反之亦然（Gottlieb et al. 1976；Roth and Marchase 1976；Halfter et al. 1981）。视网膜神经节细胞被一个转录因子的梯度沿背 - 腹轴方向特化。背侧的视网膜细胞表达高水平的 Tbx5 转录因子，而腹侧细胞具有高水平的 Pax2。来自附近组织的一些旁分泌因子（分别为骨形态发生蛋白 -4 和视黄酸）诱导这些转录因子的表达（Koshiba-Takeuchi et al. 2000）。Tbx5 在早期鸡胚胎视网膜的错误表达导致显著异常的视网膜顶盖投射。因此，视网膜神经节细胞根据它们的位置而被特化。

一个排斥性梯度目前已经被鉴别出来，并且其功能也被予以描述。这个梯度在视顶盖后部最高，在前部最弱。Bonhoeffer 及其同事（Walter et al. 1987；Baier and Bonhoeffer 1992）将来自视顶盖后部和前部的交替膜“条纹”制备成一个视顶盖膜“地毯”。然后他们使细胞从视网膜的鼻区（前）或颞区（后）区域向这个“地毯”延伸轴突。鼻区神经节细胞能同样地向前部和后部的视顶盖膜延伸轴突。然而，来自视网膜颞区的神经元仅在前部的视顶盖膜上延伸轴突。当颞区视网膜神经节轴突的生长锥接触后部的视顶盖细胞膜时，生长锥的丝足撤回，生长锥萎陷并回缩（Cox et al. 1990）。

这种特异性的基础可能来自沿视顶盖和视网膜形成的两组梯度。第一个梯度组由肝配蛋白及其受体组成。在视顶盖，肝配蛋白（尤其是肝配蛋白 A2 和肝配蛋白 A5）形成的梯度在后部（尾部）浓度最高，在前部（喙部）的浓度下降（**图 15.39A**）。此外，克隆的肝配蛋白具有排斥轴突的能力，并且异位表达的肝配蛋白能阻止来自视网膜颞区（而不是从鼻区）的轴突投射到它所表达的位置（Drescher et al. 1995；Nakamoto et al. 1996）。鸡胚胎视网膜神经节细胞表达肝配蛋白受体，沿视网膜神经节轴突在颞 - 鼻轴方向形成一个梯度（Cheng et al. 1995）。这个梯度的形成似乎归因于视黄酸表达的时控调节（Sen et al. 2005）。

肝配蛋白是一些具有显著柔性的分子。视顶盖中肝配蛋白 A 的浓度差异可以用来解释平滑的形貌图（视网膜中神经元的位置连续映射到目标细胞）。Hansen 及其同事（2004）证明，肝配蛋白 A 对于视网膜轴突既是吸引性信号也是排斥性信号。而且，他们对轴突生长的定量分析表明，轴突的来源决定了它是否被肝配蛋白吸引或排斥。位于适当目标前部的低浓度肝配蛋白 A 促进轴突生长，而位于正确目标后部的高浓度肝配蛋白 A 起抑制作用（**图 15.39B**）。每个轴突因此被导向至正确的位置，然后被告知不能再走远。在这个平衡点上将不会有生长和抑制，因此轴突可以与视顶盖的目标神经元形成突触。

第二组梯度平行于肝配蛋白和肝配蛋白受体。视顶盖有一个 Wnt3 的梯度，在内侧区域最高，在外侧区域最低（与肝配蛋白梯度一样）。在视网膜，Wnt 受体的梯度在腹侧最高（与肝配蛋白受体一样）。这两组梯度对特化轴突 - 视顶盖目标的坐标都是必需的（Schmitt et al. 2006）。

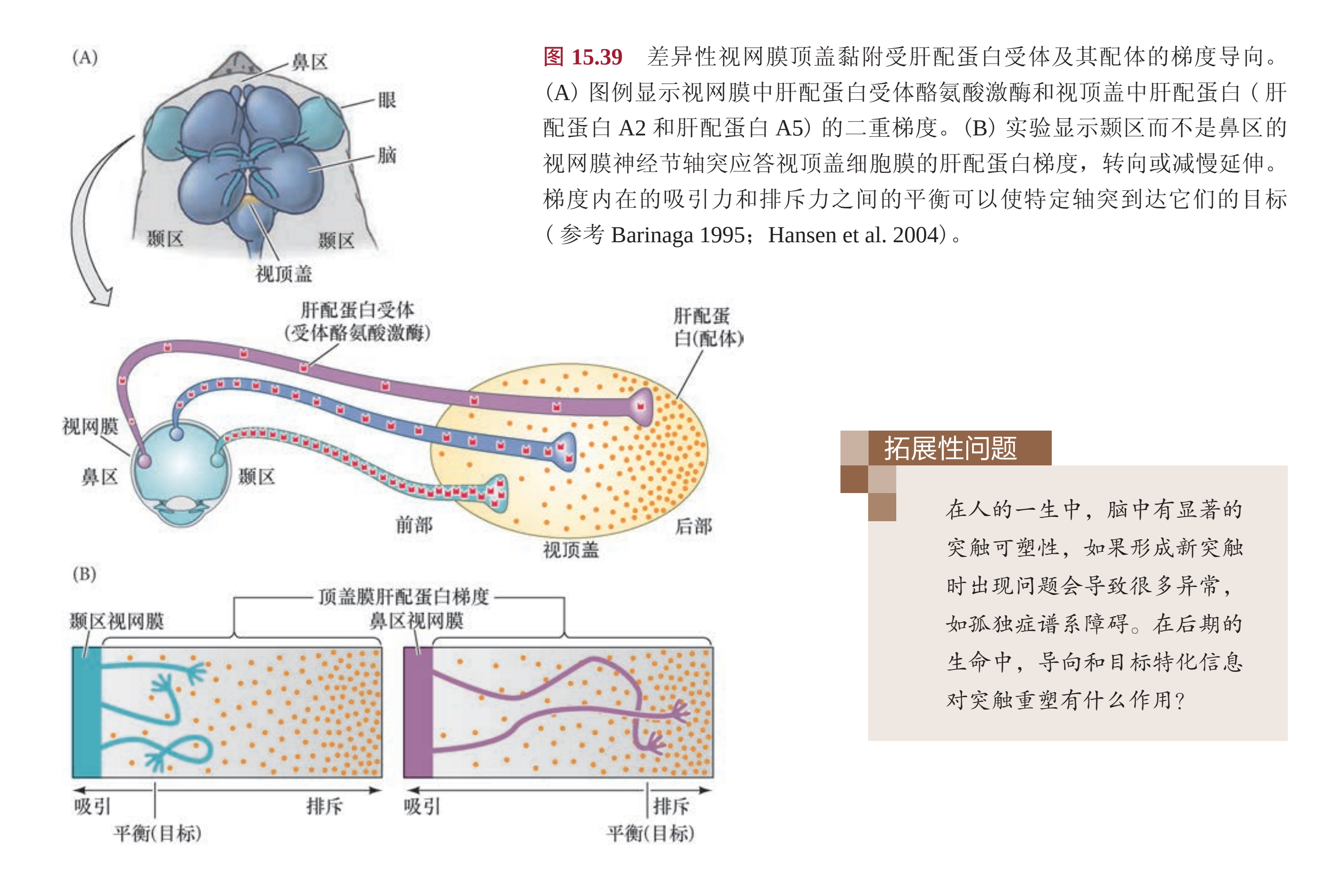


图 15.39 差异性视网膜顶盖黏附受肝配蛋白受体及其配体的梯度导向。(A) 图例显示视网膜中肝配蛋白受体酪氨酸激酶和视顶盖中肝配蛋白（肝配蛋白 A2 和肝配蛋白 A5）的二重梯度。(B) 实验显示颞区而不是鼻区的视网膜神经节轴突应答视顶盖细胞膜的肝配蛋白梯度，转向或减慢延伸。梯度内在的吸引力和排斥力之间的平衡可以使特定轴突到达它们的目标（参考 Barinaga 1995；Hansen et al. 2004）。

拓展性问题

在人的一生中，脑中有显著的突触可塑性，如果形成新突触时出现问题会导致很多异常，如孤独症谱系障碍。在后期的生命中，导向和目标特化信息对突触重塑有什么作用？

15.2.7 突触形成

当一个轴突接触到它的目标时（通常是一个肌细胞或另一个神经元），它会形成一个称为**突触**（**synapse**）的特殊连接。**突触前神经元**（**presynaptic neuron**），即传递信号的神经元的轴突末端释放一些化学神经递质，使目标细胞，即**突触后细胞**（**postsynaptic cell**）的膜去极化或超极化。神经递质被释放到两个细胞之间的突触裂隙中，在那里它们与目标细胞的受体结合。

突触的建立包括几个步骤（Burden 1998）。当脊髓的运动神经元向肌细胞延伸轴突时，与新形成的肌细胞接触的生长锥在肌细胞表面上迁移。在生长锥首次黏附到一个肌纤维的细胞膜上时，生长锥和肌纤维的细胞膜都没有发生特化。然而，轴突末端很快开始积累含有神经递质的突触小泡，两种细胞的膜在接触区域变厚，细胞之间的突触裂隙被含有特定层粘连蛋白的细胞外基质所填充（**图 15.40A ～ C**）。这种肌细胞来源的层粘连蛋白特异地结合到运动神经元的生长锥，作为轴突生长的“停车信号”（Martin et al. 1995；Noakes et al. 1995）。至少在一些神经元与神经元的突触中，突触被神经钙黏素所稳定。突触的活动从生长锥的储存小泡中释放神经钙黏素（Tanaka et al. 2000）。

在肌细胞中，第一个轴突接触后，来自其他轴突的生长锥向这个位置聚集以形成额外的突触。在哺乳动物发育过程中，所有被研究过的肌细胞都受到至少两个轴突的支配。然而，这种多神经元支配只是短暂的；在出生后不久，除了其中一个轴突的分支被保留下来以外，其他轴突分支都收缩回去（**图 15.40D ～ F**）。这种“地点选择”的基础是轴突之间的竞争（Purves and Lichtman 1980；Thompson 1983；Colman et al. 1997）。当其中一个运动神经元具有活性时，它可能通过一种一氧化氮依赖的机制抑制其他神经元的突触（Dan and Poo 1992；Wang et al. 1995）。最终，活性低的突触被去除。保留下来的轴突终端扩展并被施万细胞包裹（见图 15.40E）。

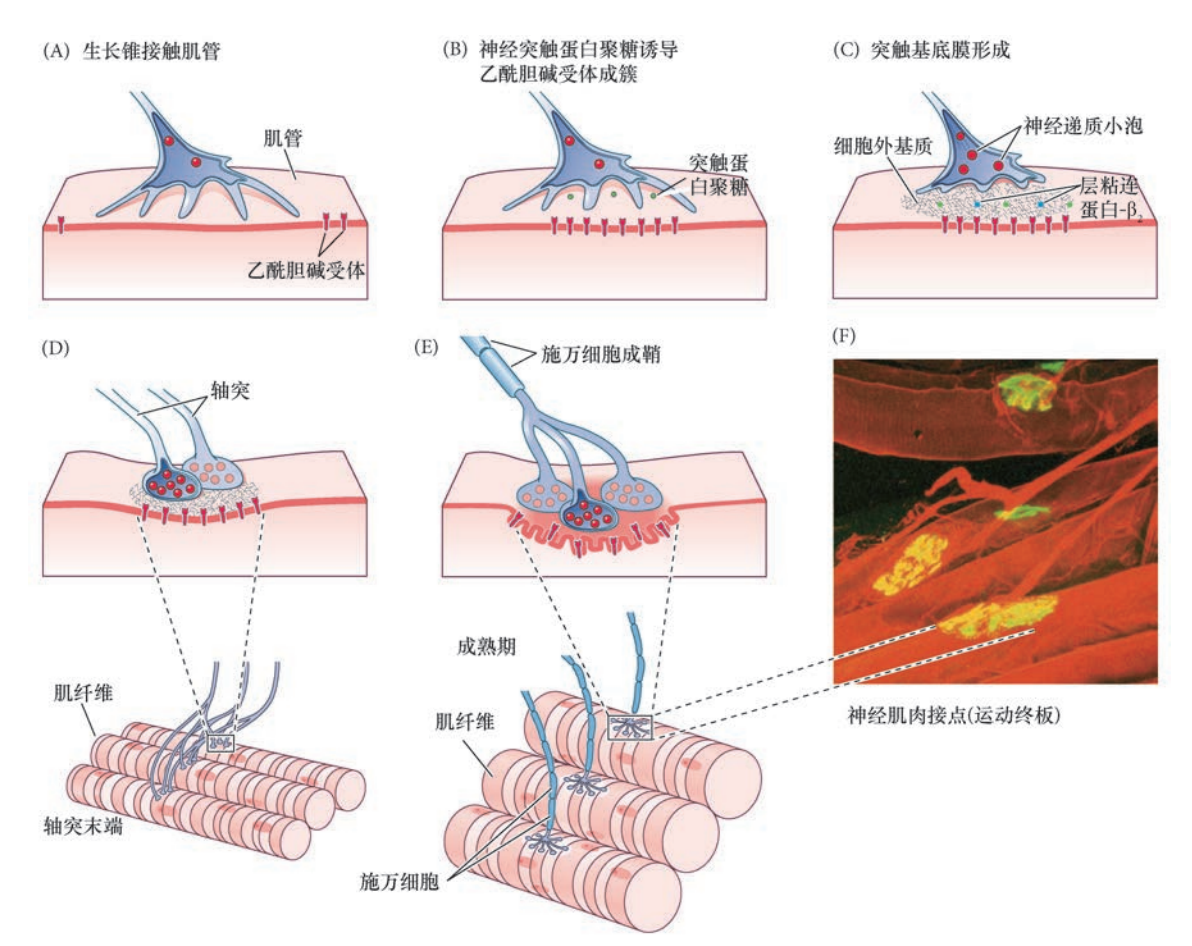


图 15.40　哺乳动物中一个运动神经元突触与一个肌细胞的分化。(A) 一个生长锥接近一个发育中的肌细胞。(B) 轴突停止生长，在肌细胞表面形成非特化的接触。神经元释放的突触蛋白聚糖 (agrin) 引起乙酰胆碱 (ACh) 受体在轴突附近聚集。(C) 神经递质小泡进入轴突末端 (AT)，随着突触变宽，轴突末端被细胞外基质连接到肌细胞。这个细胞外基质含有神经特异的层粘连蛋白。(D) 其他轴突向相同的突触位点聚集。放大图（下部）显示肌细胞受多个轴突支配（见于出生时的哺乳动物）。(E) 除了其中一个轴突外，其他轴突都被去除。保留下来的轴突能进行分支，与肌纤维形成复杂的神经肌肉接点。每个轴突末端被施万细胞的突出所包裹，肌细胞膜上也形成褶皱。上图显示出生几周以后的肌肉神经支配。(F) 小鼠中成熟的神经肌肉接点的整体视图 (A ～ E 图参考 Hall and Sanes 1993；Purves 1994；Hall 1995；F 图由 M. A. Ruegg)。

15.2.8　细胞死亡的一个程序

“生存还是毁灭，这是问题所在”。神经系统发育中最令人费解的现象之一就是神经元细胞的死亡。在脊椎动物中枢和周围神经系统的许多部分，一半以上的神经元在正常发育过程中死亡。此外，物种间似乎没有保守的细胞凋亡图式。例如，约 80% 的猫视网膜神经节细胞死亡，而鸡视网膜有 40% 的细胞死亡。鱼类和两栖动物的视网膜似乎没有神经节细胞死亡 (Patterson 1992)。是什么导致了这种程序性细胞死亡？

虽然我们都在不断地面临生存或死亡的抉择，但这种存在二分法对于胚胎细胞来说却是尤为鲜明。程序性细胞死亡或**细胞凋亡** (**apoptosis**)，是发育的正常部分（见 Fuchs and Steller 2011）；这个术语来自希腊语，表示树叶从树上落下来或花瓣从花朵上掉下来的自然过程。细胞凋亡是一个活跃的过程，并且受到进化选择的影响。第二种类型的细胞死亡是**坏死** (**necrosis**)，这是由外部因素（如炎症或毒性损伤）引起的病理性死亡。

在线虫中，随着动物的发育，我们可以计数细胞的数量，在正常的发育图式中正好有 131 个细胞死亡。线虫的所有细胞都被编程为死亡，除非它们被指令不进行细胞凋亡。在成年人中，每天有多达 10^{11} 个

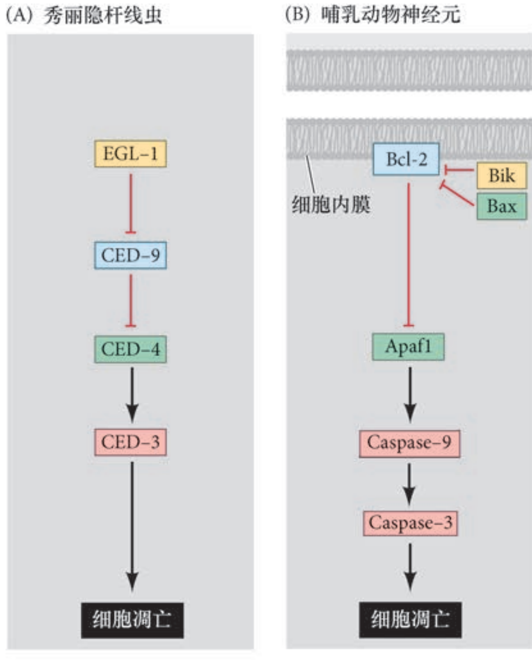
细胞死亡，并被其他细胞所取代（的确，每年我们通过正常细胞死亡所失去的细胞的质量接近我们的体重!）。在胚胎发育过程中，我们不断地产生和破坏细胞，我们在出生时产生的神经元数量是我们在生命结束时神经元数量的 3 倍。Lewis Thomas（1992）很明智地指出：

到我出生的时候，死亡的细胞超过了最终活下来细胞。难怪我不记得出生前的事情；在 9 个月的时间里，我的脑更新了一遍又一遍，最终构建出一个可能是人类的模型，并且还配备了语言。

细胞凋亡不仅对于神经元的适当间隔和定向是必需的，而且对于产生中耳空间、雌性阴道开口，以及我们的手指和脚趾之间的间隔也是必需的（Saunders and Fallon 1966；Rodriguez et al. 1997；Roberts and Miller 1998）。细胞凋亡可以去除不需要的结构（如蛙的尾、雄性乳腺组织）、控制特定组织（脊椎动物和蝇中的神经元）的细胞数量、雕塑复杂的器官（颚、视网膜、指和趾、心脏）。

对细胞凋亡途径的描述主要来自秀丽隐杆线虫的遗传学研究。的确，Sydney Brenner、H. Robert Horvitz 和 John E. Sulston 获得了 2002 年的诺贝尔生理学或医学奖，使这些途径的重要性得到了科学界的公认。在线虫中的研究发现，*ced-3* 和 *ced-4* 基因对细胞凋亡是必不可少的，在不经历凋亡的细胞中，这些基因被 *ced-9* 基因的产物所关闭（图 15.41A；Hengartner et al. 1992）。CED-4 蛋白是一种蛋白酶激活因子，能激活 CED-3，而 CED-3 是一个启动破坏细胞的蛋白酶。CED-9 能结合和失活 CED-4。使 CED-9 蛋白失活的基因突变导致很多原本正常存活的细胞激活 *ced-3* 和 *ced-4* 基因并死亡，进而引起整个胚胎的死亡。相反，*ced-9* 基因的功能获得突变使应该死亡的细胞合成其产物，导致这些细胞继续存活。因此，*ced-9* 基因似乎是在细胞水平上调节生命和死亡选择的双向开关。有可能是线虫胚胎中的每个细胞都准备死亡，





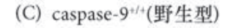






图 15.41　细胞凋亡的缺失干扰脑的正常发育。(A) 在秀丽隐杆线虫中，CED-4 是一个能激活 CED-3 的蛋白酶激活因子。CED-3 蛋白酶启动破坏细胞的事件。CED-9 能抑制 CED-4（EGL-1 可在上游抑制 CED-9）。(B) 哺乳动物中存在类似的途径，并以类似的方式发挥作用。在这个调节哺乳动物神经元凋亡的假设过程中，$Bcl\text{-}X_L$（Bcl-2 家族的一个成员）结合凋亡蛋白酶激活因子 -1（Apag-1）并阻止其激活胱天蛋白酶 -9（Caspase-9）的前体。细胞凋亡的信号使另一个蛋白质（这里是 Bik）抑制凋亡蛋白酶激活因子 -1 与 $Bcl\text{-}X_L$ 的结合。这使凋亡蛋白酶激活因子 -1 能与胱天蛋白酶 -9 前体结合并将其切割。胱天蛋白酶 -9 二聚化后激活胱天蛋白酶 -3（Caspase-3），起始细胞凋亡。相同的颜色被用来表示同源蛋白。(C，D) 胱天蛋白酶 -9 基因被敲除的小鼠不能发生正常的神经细胞凋亡，脑神经元呈现明显的过度增殖。(C) 一个 6 天的野生型小鼠胚胎。(D) 胱天蛋白酶 -9 基因被敲除的同龄小鼠。扩张的脑向面上部突出，四肢仍保留蹼（A 图和 B 图参考 Adams and Cory 1998；C 图和 D 图来自 Kuida et al. 1998）。

那些存活的细胞是由于 *ced-9* 基因的激活而被拯救。

CED-3 和 CED-4 蛋白处在细胞凋亡途径的关键位置，这在所有被研究的动物中都是相同的。凋亡的触发因素可以是一个发育信息，例如，一个特定的分子（如骨形态发生蛋白 -4 或糖皮质激素）、失去与一个基质的黏附、缺乏充分的神经营养信号。任何一种类型的信息都能激活 CED-3 或 CED-4 蛋白，或失活 CED-9 蛋白。在哺乳动物中，CED-9 蛋白的同源物是 Bcl-2 家族的成员（包括 Bcl-2、Bcl-X 和一些类似的蛋白质；**图 15.41B**）。这些蛋白质在不同物种中有极高的功能相似性，如果将一个活化的人类 *BCL-2* 基因表达在秀丽隐杆线虫的胚胎中，它可以防止正常发生的细胞死亡（Vaux et al. 1992）。

CED-4 在哺乳动物的同源物是凋亡蛋白酶激活因子 -1。这个因子以细胞色素 c 依赖的方式激活 CDE-3 的哺乳动物同源物，即胱天蛋白酶 -9 和胱天蛋白酶 -3（见图 15.41；Shaham and Horvitz 1996；Cecconi et al. 1998；Yoshida et al. 1998）。胱天蛋白酶的激活导致一个自分解的级联反应，即胱天蛋白酶是一些活性强的蛋白酶，它们从内部消化细胞、切割蛋白质并使 DNA 片段化。

尽管凋亡缺陷型线虫（缺失 CED-4 的线虫）仍然具有生存能力（虽然它们比野生型线虫多出 15% 以上的细胞），但胱天蛋白酶 -3 或胱天蛋白酶 -9 的功能缺失突变体小鼠在出生时死于神经系统细胞的过度生长（**图 15.41C，D**；Jacobson et al. 1997；Kuida et al. 1996，1998）。类似地，凋亡蛋白酶激活因子 -1 基因缺失的纯合突变体小鼠具有严重的颅面异常、脑过度生长和趾间蹼。

网络话题 15.7　**细胞凋亡的利用**　凋亡在整个发育中被用于很多过程。这个网站探索凋亡在果蝇生殖细胞发育及盲穴鱼眼中的作用。

15.2.8.1　活性依赖的神经元存活

一个神经元的凋亡性死亡不是由于神经元本身的任何明显缺陷而造成的。事实上，在死亡之前，这些神经元已经分化并成功地将轴突延伸到目标。相反地，目标组织似乎通过选择性地支持某些突触的存活来调节自身被轴突支配的数量。最近一个关于运动神经元在肢中寻径的研究表明，神经元的存活依赖于神经元活动（Hua et al. 2013）。如果操纵导向系统将运动轴突误送到肢中不正确的肌细胞，即便是出现了目标选择的错误，运动神经元仍能存活下来，这是因为它们能成功地形成突触。相反，在 Frizzled-3（Wnt/ 平面细胞极性途径的一个受体）的基因被敲除的小鼠中，运动神经元在肢中不能找到它们的目标肌细胞，这些神经元一直不能形成突触，因此它们便经历细胞凋亡（**图 15.42**；Hua et al. 2013）。这些结果有力地支持了成功的突触形成对神经元存活的必要性，并且也说明目标细胞（在这种情况下是肌纤维）必须向突触前细胞提供一个促进神经元存活的信号。但这个生存信号是什么？

15.2.8.2　神经支配后的差异性存活：神经营养因子的作用

目标组织通过限制神经营养因子的供应来调节自身受神经支配的轴突数量。除了它们的化学营养因子作用之外，神经营养因子调节不同亚群神经元的存活（**图 15.43**）。例如，神经生长因子对于交感和感觉神经元的存活是必需的。用抗神经生长因子的抗体处理小鼠胚胎使三叉交感神经元和背根神经节神经元的数量与对照相比减少了 20%（Levi-Montalcini and Booker 1960；Pearson et al. 1983）。而且，去除目标组织后导致本来应该支配这些组织的神经元死亡，因此神经生长因子的分泌量与支配这些组织的神经元的存活呈现出一个很好的相关性（Korsching and Thoenen 1983；Harper and Davies 1990）。相比之下，另一种神经营养因子，即脑源性神经营养因子，不影响交感或感觉神经元，但它能在体内避免正常发生的胎儿运动神经元的细胞死亡，以及在去除这些神经元的目标组织后所诱导的细胞死亡。这些体外的研究结果已经被基因敲除实验所证实，即缺失一些特定的神经营养因子仅导致一些亚群的神经元的缺失（Crowley et al. 1994；Jones et al. 1994）。

图 15.42 在 *Frizzled-3* 基因被敲除的小鼠中分析运动神经元轴突的停滞和细胞死亡。(A) 神经丝蛋白的整封免疫细胞化学照片，标记胚胎中的所有轴突。本书的封面有类似的全彩整体图片。(B) 使用神经丝 (NF) 抗体对轴突投射到后肢的详细观察。不同纵深的轴突沿肢的背 - 腹轴方向用各种伪色显示。*Frizzled-3* 杂合突变体 ($Fz3^{+/-}$) 小鼠显示正常的背部神经投射，而纯合突变体 ($Fz3^{-/-}$) 小鼠呈现出不同程度的背部神经缺失（这里显示了两个实例）。外侧运动柱的外侧 (LMC_L) 运动神经元（背神经）轴突的延伸轨迹被显示在每个图的下方，强调轴突向远端神经从投射的减少。(C) 脊髓的横切片，标记离散群体的运动神经元及经历凋亡的细胞，如胱天蛋白酶 -3(Caspase-3) 的标记所示（绿色，右侧图）。*Frizzled-3* 基因被敲除的小鼠（下方图）呈现运动神经元特化标志物 Islet1/2（红色）和 Foxp1（绿色，左侧照片）的减少，以及特异性地发生在运动神经柱中细胞死亡的增加。(D) 示意图描述 Frizzled-3/ 平面细胞极性信号缺失后引起的表型。首先是预定形成肢背侧的运动神经元停滞，然后是细胞死亡 (A ～ C 图来自 Hua et al. 2013；D 图来自 Yung and Goodrich 2013)。

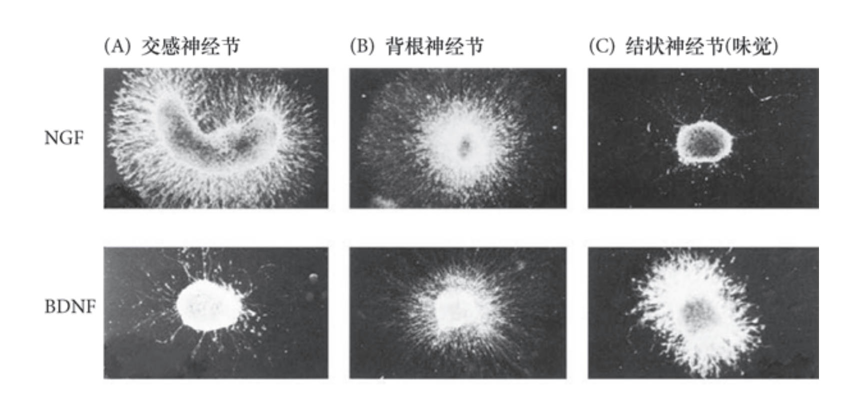


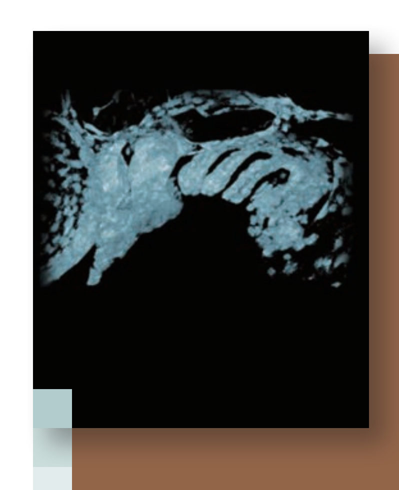
图 15.43 神经生长因子 (NGF；上排) 和脑源性神经营养因子 (BDNF；下排) 对来自交感神经节 (A)、背根神经节 (B) 和结状（味觉）神经节 (C) 轴突生长的影响。虽然神经生长因子和脑源性神经营养因子对背根神经节轴突的生长都有轻度的刺激作用，但是交感神经节对神经生长因子有显著的应答，对脑源性神经营养因子几乎不产生应答。结状神经节对这些因子的应答正好相反（来自 Ibáñez et al. 1991）。

成体中不断产生一些神经营养因子，它们的缺失可能会导致一些衰弱性疾病。纹状体是脑中的一个区域，调节协调的肌肉活动强度，如运动、平衡和行走。脑源性神经营养因子对其中一个特定亚群的神经元的存活是必需的，它能使这些神经元进行分化和合成多巴胺的受体。脑源性神经营养因子在脑的这个区域受到亨廷顿（Huntingdun）蛋白的上调，这是一个在亨廷顿病（也称舞蹈病）中发生突变的蛋白质。亨廷顿病患者中的脑源性神经营养因子减少，导致纹状体神经元死亡（Guillin et al. 2001；Zuccato et al. 2001）。其结果是一系列的认知异常、不自主的肌肉运动和神经细胞的最终死亡。另外两种神经营养因子——胶质细胞源性神经营养因子（GDNF，在神经嵴迁移中已经予以讨论）和保守型多巴胺神经营养因子（CDNF），能增强中脑多巴胺能神经元的存活。这些神经元的破坏是帕金森病的特征（Lin et al. 1993；Lindholm et al. 2007）。中脑的多巴胺能神经元将轴突延伸到纹状体的细胞，这些细胞对多巴胺信号的应答能力依赖于脑源性神经营养因子。目前人们正在检测一些激活神经营养因子的药物是否具有治疗帕金森病和阿尔茨海默病的效果（Youdim 2013）。

网络话题 15.8　**行为的发育：稳定性和可塑性**　一些神经元连接与一些特定行为的关联是发育神经生物学中最迷人的方面之一。

下一步的研究

神经发育的研究领域取得了很大的进展，已经鉴定出众多参与建立神经连接的关键因子。从特化神经细胞命运的关键转录因子和目标特异性所必需的轴突导向受体，到生长锥中的机械装置，以及分泌性导向信息和生存因子，我们正在开始真正了解一个神经回路是如何形成的。不过，科学家们也是刚开始将一些回路拼凑在一起，以便得到关于神经发育在一个系统水平上的概观。每个神经元从一个中间目标发送轴突到另一个目标，然后到最终的目的地。目前，我们对于一个特定神经元在整个旅途中的全部导向机制还知之甚少，更不用说多个连接之间的联系。然而，伴随着体内活体细胞成像的最新进展，在轴突寻径过程中使细胞之间的动态可视化这个新领域的研究一定会揭示神经连接的某些奥秘。你们可以在 Eyewire 游戏中将脑神经连接起来（http：//eyewire.org/explore）。



开篇图的思考

这个图显示颅神经嵴细胞在 42 h 的斑马鱼胚胎的咽弓中扩增，这个斑马鱼在 *fli1a* 启动子的驱动下表达绿色荧光蛋白。这是一个前部位于左侧的侧面观。前两个主要神经嵴细胞流将形成下颌软骨，更后部的神经嵴细胞流形成“鳃弓”和鳃结构。颅神经嵴细胞对构建颅面骨骼（鱼和人类的“面部”相近）有重要的作用。直到最近我们才开始了解，颅神经嵴细胞的运动使用本章所描述的集体迁移机制。颅神经嵴所构造的咽弓图式可能看起来很复杂，但你可以按字面上的意思去理解这些结构。这是一个激光共聚焦显微图像，因此具有三维效果。你可以浏览国立健康研究院的三维打印交换网站（http://3dprint.nih.gov/discover/3dpx-001506），下载这个转基因斑马鱼胚胎 [*tg*（*fli1a*：*EGFP*）] 的咽弓文件，使用这个文件打印一个你能保留的三维模型（图像和三维建模由 Barresi 实验室制备并提供；Barresi et al. 2015）。



要点总结

神经嵴细胞和轴突特异性

1. 神经嵴是一个过渡性的结构。它的细胞通过迁移变成很多不同的细胞类型。神经嵴细胞的迁移途径取决于它们遇到的细胞外环境。
   - 躯干神经嵴细胞向背外侧迁移，变成黑素细胞和背根神经节细胞。它们也可以向腹部迁移，变成交感和副交感神经元及肾上腺髓质细胞。
   - 颅神经嵴细胞进入咽弓，变成颌的软骨和中耳骨。它们也参与形成额鼻突的骨、牙的乳头和颅神经。
   - 心脏神经嵴细胞进入心脏并在肺动脉和主动脉之间形成隔膜（分隔壁）。
2. 神经嵴的形成取决于未来表皮和神经板之间的相互作用。来自这些区域的一些旁分泌因子诱导一些转录因子的表达，促使神经嵴细胞的迁移。
3. 神经嵴细胞的集体迁移受运动的接触抑制和对前导细胞的共吸引所驱动，低水平的神经钙黏素、双极的 Rho 鸟苷三磷酸酶活性、对间质衍生因子 -1 分泌的吸引的组合介导这些细胞行为。
4. 躯干神经嵴细胞将经过每个生骨节的前部迁移，而不经过其后部。表达在每个生骨节后部的 semaphorin 蛋白和肝配蛋白能阻止神经嵴细胞的迁移。
5. 一些神经嵴细胞能形成众多不同的细胞类型。其他神经嵴细胞的分化潜能在迁移之前可能就受到限制。神经嵴细胞的最终目的地有时能改变它们的特化状态。
6. 颅神经嵴细胞的命运受同源异形基因的影响。这些细胞能通过与相邻细胞的相互作用获得同源异形基因的表达图式。
7. 运动神经元根据它们在神经管中的位置而被特化。在这些神经元的轴突延伸到外围之前，Lim 家族的一些转录因子对这个特化过程发挥重要作用。
8. 生长锥是神经元的运动细胞器，它能应答环境信息，重新排列细胞骨架结构。轴突能在没有神经元活动的情况下找到目标。
9. 一些蛋白质通常容许神经元的黏附并为轴突迁移提供基质。其他一些物质则抑制轴突迁移。
10. 一些生长锥能识别一些表达在非常特异的区域的分子，并被这些分子导向至它们各自的目标。
11. 一些神经元被排斥性分子“维持秩序”。如果神经元偏离了通向目标的途径，这些分子将会使它们返回。一些分子，如 semphorin 和 Slit，对特定的神经元有选择性的排斥作用。
12. 一些神经元可能感知一个蛋白质的浓度梯度并沿着这些梯度被导向至它们的目标。神经轴突导向因子和 Shh 可能以这种方式调控神经元的运动。
13. 生长锥对中线分泌的吸引性和排斥性信息的应答变化使连合轴突穿过中线并连接到中枢神经系统的两侧。
14. 目标选择能被一些神经营养因子所介导，目标组织合成这些蛋白质以刺激特定的轴突对自身的支配。在某些情况下，目标细胞分泌的这些因子只能支持一个轴突。神经营养因子也在很多神经元的细胞凋亡中起作用。
15. 蛙和鸡的视网膜神经节细胞发送一些结合视顶盖特定区域的轴突。这个过程受众多的相互作用所介导，目标选择似乎受一些肝配蛋白所介导。
16. 突触的形成具有一个活性依赖的成分。一个活跃的神经元能抑制其他神经元在同一目标上形成突触。
17. 突触形成和神经元活动的缺失能引起程序性细胞死亡或细胞凋亡，这个过程触发胱天蛋白酶的一个级联反应，导致细胞死亡。

拓展阅读

Baggiolini, A. and 10 others. 2015. Premigratory and migratory neural crest cells are multipotent in vivo. *Cell Stem Cell* 16: 314–322.

Bard, L., C. Boscher, M. Lambert, R. M. Mège, D. Choquet and O. Thoumine. 2008. A molecular clutch between the actin flow and N-cadherin adhesions drives growth cone migration. *J. Neurosci.* 28: 5879–5890.

Cammarata, G. M., E. A. Bearce and L. A. Lowery. 2016. Cytoskeletal social networking in the growth cone: How +TIPs mediate microtubule-actin cross-linking to drive axon outgrowth and guidance. *Cytoskeleton* doi: 10.1002/cm.21272.

Clay, M. R. and M. C. Halloran. 2014. Cadherin 6 promotes neural crest cell detachment via F-actin regulation and influences active Rho distribution during epithelial-to-mesenchymal transition. *Development* 141: 2506–2515.

Duband, J. L., A. Dady and V. Fleury. 2015. Resolving time and space constraints during neural crest formation and delamination. *Curr. Top. Dev. Biol.* 111: 27–67.

Harada, T., C. Harada and L. F. Parada. 2007. Molecular regulation of visual system development: More than meets the eye. *Genes Dev.* 21: 367–378.

Keleman, K. and 7 others. 2002. Comm sorts Robo to control axon guidance at the *Drosophila* midline. *Cell* 110: 415–427.

Kolodkin, A. L. and M. Tessier-Lavigne. 2011. Mechanisms and molecules of neuronal wiring: A primer. *Cold Spring Harbor Persp. Biol.* 3(6): pii: a001727.

Martinez, E. and T. S. Tran. 2015. Vertebrate spinal commissural neurons: a model system for studying axon guidance beyond the midline. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 4: 283–297.

Okada, A. and 7 others. 2006. Boc is a receptor for Sonic hedgehog in the guidance of commissural axons. *Nature* 444: 369–373.

Preitner, N. and 7 others. 2014. APC is an RNA-binding protein, and its interactome provides a link to neural development and microtubule assembly. *Cell* 158: 368–382.

Sabatier, C. and 7 others. 2004. The divergent Robo family protein rig-1/Robo3 is a negative regulator of slit responsiveness required for midline crossing by commissural axons. *Cell* 117: 157–169.

Sánchez-Arrones, L., F. Nieto-Lopez, C. Sánchez-Camacho, M. I. Carreres, E. Herrera, A. Okada and P. Bovolenta. 2013. Shh/Boc signaling is required for sustained generation of ipsilateral projecting ganglion cells in the mouse retina. *J. Neurosci.* 33: 8596–8607.

Scarpa, E. and R. Mayor. 2016. Collective cell migration in development. *J. Cell Biol* 212: 143–155.

Scarpa, E., A. Szabó, A. Bibonne, E. Theveneau, M. Parsons and R. Mayor. 2015. Cadherin switch during EMT in neural crest cells leads to contact inhibition of locomotion via repolarization of forces. *Dev. Cell* 34: 421–434.

Simões-Costa, M. and M. E. Bronner. 2015. Establishing neural crest identity: A gene regulatory recipe. *Development* 142: 242–257.

Simpson, J. H., K. S. Bland, R. D. Fetter and C. S. Goodman. 2000. Short-range and long-range guidance by Slit and its Robo receptors: A combinatorial code of Robo receptors controls lateral position. *Cell* 103: 1019–1032.

Teillet, M.-A., C. Kalcheim and N. M. Le Douarin. 1987. Formation of the dorsal root ganglia in the avian embryo: Segmental origin and migratory behavior of neural crest progenitor cells. *Dev. Biol.* 120: 329–347.

Theveneau E., B. Steventon, E. Scarpa, S. Garcia, X. Trepat, A. Streit and R. Mayor. 2013. Chase-and-run between adjacent cell populations promotes directional collective migration. *Nature Cell Biol.* 15: 763–772.

Tosney, K. W. 2004. Long-distance cue from emerging dermis stimulates neural crest melanoblast migration. *Dev. Dynam.* 229: 99–108.

Waldo, K., S. Miyagawa-Tomita, D. Kumiski and M. L. Kirby. 1998. Cardiac neural crest cells provide new insight into septation of the cardiac outflow tract: Aortic sac to ventricular septal closure. *Dev. Biol.* 196: 129–144.

Walter, J., S. Henke-Fahle and F. Bonhoeffer. 1987. Avoidance of posterior tectal membranes by temporal retinal axons. *Development* 101: 909–913.

Yoshida, T., P. Vivatbutsiri, G. Morriss-Kay, Y. Saga and S. Iseki. 2008. Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech. Dev.* 125: 797–808.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 16 章

外胚层基板和表皮

是什么机制控制毛发生长在身体的不同部位?



细胞形状、细胞分裂和细胞运动的协同变化，能使上皮层折叠成精细复杂的三维结构（Montell 2008；St. Jonhnston and Sanson 2011）。一个重要类型的上皮重组是**外胚层基板**（**ectodermal placode**）的形成，这是变成众多器官原基的表面外胚层增厚。外胚层基板包括颅感觉基板，如嗅（鼻）、听（耳）和晶状体（眼）基板，以及产生非感觉性皮肤结构（如毛发、牙齿、羽毛、乳腺和汗腺）的基板（Pispa and Thesleff 2003）。

16.1 颅基板：我们头部的感官

脊椎动物的头部集中了大量对感知有关键作用的神经元。除了脑以外，眼、鼻、耳和味蕾也都位于头部。另外，头部还有它自身高度整合的神经系统，用于感知疼痛（如支配牙齿的三叉神经元）和愉悦（如我们嘴唇和舌上的受体）。这个神经系统的元件来自**颅感觉**

要点

基板是外胚层表面增厚的区域。颅基板形成我们面部的感觉神经元，变成听觉、嗅觉、味觉和视觉器官。来自脑的一个隆突诱导晶状体基板的形成。当晶状体基板发育成晶状体时，它指令脑隆突发育成视网膜。Pax6 似乎对前部外胚层应答预定视网膜信号的能力有重要作用。较后端的外胚层基板产生皮肤附属物，包括毛发、羽毛、鳞片、汗腺、乳腺和牙齿。这些诱导涉及多个旁分泌途径的相互作用。表皮保留了一些能使其持续再生的表皮干细胞。Notch 途径对维持表皮干细胞至关重要。表皮与其下部间充质细胞的相互作用诱导这些外胚层附属物基板的形成和成形。这些皮肤组织的生长与再生能力依赖于维持一个表皮干细胞微环境的能力，这种能力在不同的物种之间存在差异。

基板（**cranial sensory placode**），是头部和颈部位置未来神经管与表皮之间的局部和过渡性外胚层增厚（**图 16.1**）。除了颅神经嵴的部分贡献以外，颅基板产生大多数与听觉、平衡、嗅觉和味觉相关的头部外围神经元；颅神经嵴产生所有的神经胶质细胞。嗅基板产生嗅觉的感觉神经元，以及将要迁移到脑并分泌促性腺激素释放激素的迁移性神经元。听基板产生耳的感觉上皮，以及形成前庭耳蜗神经节的神经元（见 Steit 2008）。至于三叉神经节，近端的神经元来自神经嵴细胞（Baker and Bronner-Fraser 2001），远端的神经元来自三叉神经基板（Hamburger 1961）。晶状体基板是唯一不形成神经元的颅感觉基板。

整个基板区域及每个特定基板块的特化都受相邻细胞在特定时间和位置表达的旁分泌因子所决定。一些旁分泌因子及其拮抗剂（如头蛋白和 Dickkopf）有至关重要的作用（**图 16.2**）。有趣的是，整个前基板区域最初都被特化成晶状体组织。为了使其他细胞类型能够产生，这种倾向必须局部地被成纤维细胞生长因子和神经嵴细胞所抑制（Bailey et al. 2006；Streit 2008）。

除了这些产生特定感觉的前端基板以外，其他一些基板提供面部的感觉神经元。它们是**鳃上基板**（**epibranchial placode**）。这些基板在咽囊与表皮接触点的背部位置形成。腮上基板产生面神经、舌咽神经及迷走神经的感觉神经元（将器官的感觉信息传递至脑）。这些基板神经元形成的连接对于味觉及其他面

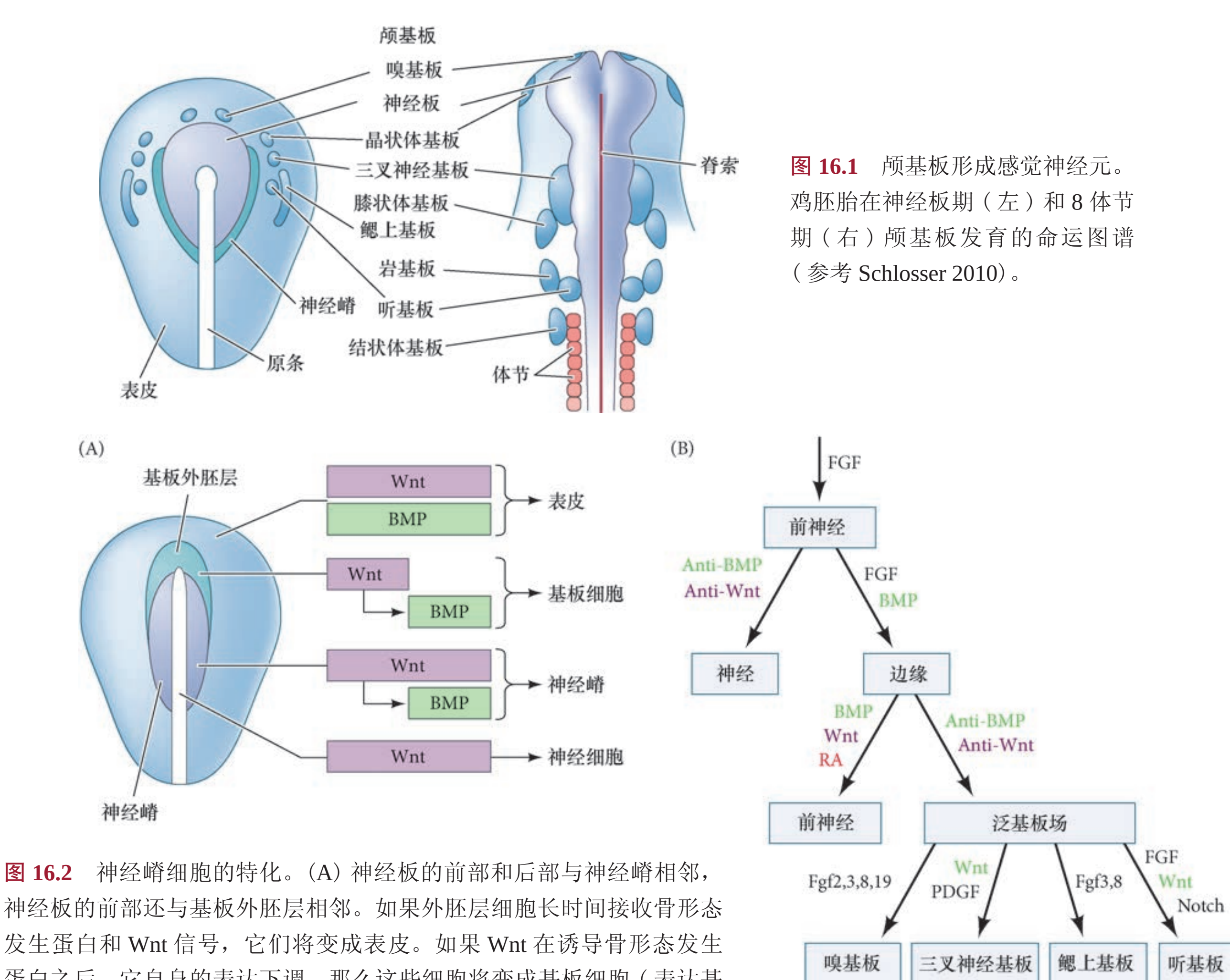


图 16.1 颅基板形成感觉神经元。鸡胚胎在神经板期（左）和 8 体节期（右）颅基板发育的命运图谱（参考 Schlosser 2010）。

图 16.2 神经嵴细胞的特化。(A) 神经板的前部和后部与神经嵴相邻，神经板的前部还与基板外胚层相邻。如果外胚层细胞长时间接收骨形态发生蛋白和 Wnt 信号，它们将变成表皮。如果 Wnt 在诱导骨形态发生蛋白之后，它自身的表达下调，那么这些细胞将变成基板细胞（表达基板特化物基因 *Six1*、*Six4*、*Eya2*）。如果 Wnt 诱导骨形态发生蛋白之后继续保持活性，那么这些位于神经板和表皮之间的边缘细胞将变成神经嵴（表达神经嵴特化物基因 *Pax7*、*Snail2*、*Sox9*）。如果外胚层细胞只接收 Wnt 信号（因为骨形态发生蛋白信号被头蛋白或者被成纤维细胞生长因子阻断），那么它们将变成神经细胞。(B) 在这个区域参与泛基板场特化和颅基板诱导的一些信号途径的图解总结。BMP：骨形态发生蛋白；FGF：成纤维细胞生长因子；PDGF：血小板源性生长因子；Anti-BMP：抗骨形态发生蛋白；Anti-Wnt：抗 Wnt；RA：视黄酸（A 图参考 Patthey et al. 2009；B 图参考 Steit 2008）。

部感觉的感知至关重要。但是，这些神经元如何找到进入后脑的路径？后期迁移的神经嵴细胞不会旅行到咽弓；相反，它们向背侧迁移以产生胶质细胞（Weston and Butler 1966；Baker et al. 1997）。这些胶质细胞形成一些将鳃上基板神经元引导至后脑的路径（Begbie and Graham 2001）。因此，后期迁移的神经嵴细胞所产生的胶质细胞对组织后脑的神经支配至关重要。

基板被相邻组织所诱导，有证据表明不同的基板都属于一个共同的早期**泛基板场**（**pan-placodal field**）的一小部分，而泛基板场受到诱导时能够形成一些基板（见图 16.2B；Streit 2004；Schlosser 2005）。颅基板可能被来自咽内胚层和头部中胚层的一组共同诱导信号诱导形成（Platt 1896；Jacobson 1966）。Jacobson（1963）的研究显示，邻近神经管前端的预定基板细胞具有产生任何基板的能力。泛基板场的前后及侧部边界受视黄酸通过成纤维细胞生长因子 -8 的作用而界定（Janesick et al. 2012）。详细的命运图谱研究证实，所有的基板前体在神经胚期都位于神经板和头神经褶前部周围的一个马蹄形区域（Pieper et al. 2011）。这些柱状的泛基板上皮表达转录因子 Six1、Six4、Eya2。所有的基板都维持这些蛋白质的表达，但在基板之间的区域这些蛋白质的表达被下调（Bhattacharyya et al. 2004；Schlosser and Ahrens 2004）。之后，泛基板场被分隔成一些离散的基板，但机制尚不清楚（Breau and Schneider-Maunoury 2014）。这时，一些不同的旁分泌因子将各个离散的基板诱导成各自命运，使每个基板表达自身的一组特异性转录因子（Groves and LaBonne 2014；Moody and LaMantia 2015）。例如，鸡胚胎中发育成内耳感觉细胞的听基板被成纤维细胞生长因子和 Wnt 信号的组合而诱导形成（Ladher et al. 2000，2005）。预定听泡及相邻的神经板都接收位于下方的头部轴旁中胚层分泌的成纤维细胞生长因子 -19，它诱导神经板分泌 Wnt8c 和成纤维细胞生长因子 -3，这两个因子进而协同地诱导听基板的形成。成纤维细胞生长因子 -19 在特定中胚层区域的表达受控于下方内胚层区域分泌的成纤维细胞生长因子 -8（**图 16.3**）。

在整个头部，神经嵴和感觉基板（那些位于表皮和神经板之间的结构）产生我们的耳、鼻、舌、面部皮肤和平衡系统中的感觉神经元。

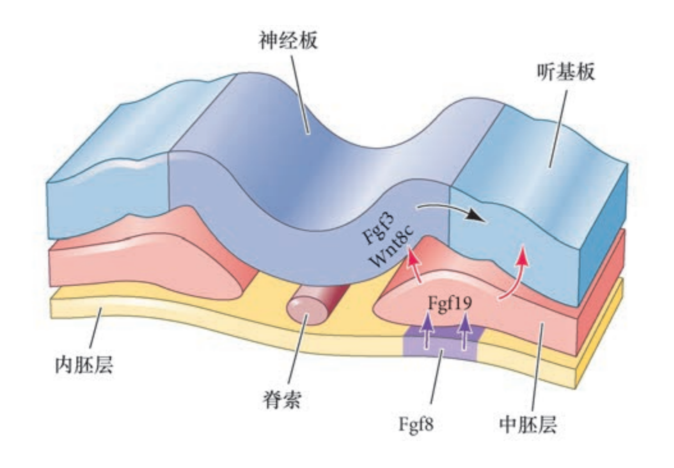


图 16.3　鸡胚胎听（内耳）基板的诱导。一部分咽内胚层分泌成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8），诱导位于其上部的中胚层分泌成纤维细胞生长因子 -19（Fgf9）。未来听基板和相邻的神经板接收成纤维细胞生长因子 -19。成纤维细胞生长因子 -19 指令神经板分泌 Wnt8c 和成纤维细胞生长因子 -3（Fgf3），这两个旁分泌因子协同激活 *Pax2* 及其他听基板特异基因，使细胞形成听基板并变成感觉细胞（参考 Schlosser 2010）。

网络话题 16.1　**卡尔曼（Kallmann）综合征**　有些不孕男子没有嗅觉。直到卡尔曼综合征的基因被识别出来之前，这两个状况之间的关系一直难以确定。

网络话题 16.2　**人的脑神经**　我们有感知外部世界的 12 对脑神经。

16.1.1　视觉器官发育的动态：脊椎动物的眼睛

晶状体基板不形成神经元，而是形成透明的晶状体以使光线能够入射视网膜。视网膜发育自前脑的一个隆突。晶状体基板细胞和预定视网膜之间的相互作用产生一系列相应的变化而形成了眼，构建了一个精细复杂的器官。在原肠胚期，头部外胚层具有应答脑泡隆突信号的能力。内卷的索前板和前肠内胚

层与邻近的未来头部外胚层相互作用，赋予头部外胚层一种形成晶状体的倾向（Saha et al. 1989）。在哺乳动物，这会诱导外胚层表达转录因子 Pax6，它对外胚层具备应答后续信号的能力有关键作用。但不是头部外胚层的所有部分最终都形成晶状体，晶状体与视网膜之间必须存在精确的空间关系。头部外胚层潜在的晶状体形成能力的激活及晶状体相对于视网膜的定位由延伸自前脑的间脑部分的**视泡**（**optic vesicle**）来完成。

图 16.4 显示脊椎动物眼的发育。在视泡接触头部外胚层的位置，它诱导外胚层伸长，形成**晶状体基板**（**lens placode**）。然后，视泡弯曲形成具有两层细胞的视杯（**optic cup**），这同时也将发育中的晶状体拉到胚胎内部。这个内陷由晶状体基板细胞延伸丝足以接触视泡而实现（Chauhan et al. 2009）。当视泡发育成视杯时，它的两层细胞开始分化。外层细胞产生黑色素（除神经嵴之外能形成色素的少数组织之一），并最终发育成**色素视网膜**（**pigmented retina**）。内层细胞快速增殖，产生各种胶质细胞、神经节细胞、中间神经元和光感受器神经元，它们共同组成**神经视网膜**（**neural retina**）。视网膜神经节细胞是一些将电脉冲传递至脑的神经元。它们的轴突在眼的基部汇合并沿视柄延伸，这时的视柄被称为**视神经**（**optic nerve**）。视杯的内层细胞（将变成神经视网膜）诱导晶状体基板变成**晶状体泡**（**lens vesicle**），最终将分化成眼的晶状体细胞（见图 16.10）。

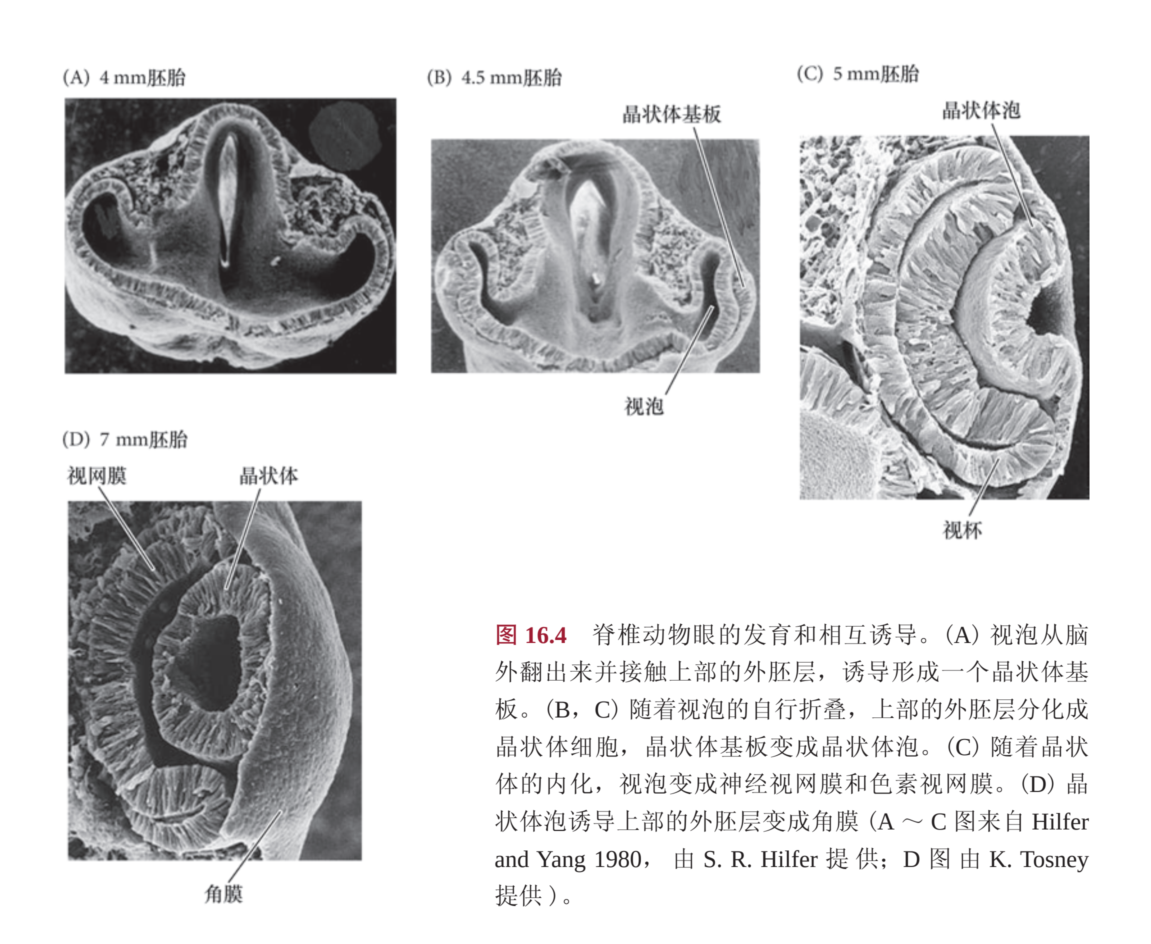


图 16.4 脊椎动物眼的发育和相互诱导。(A) 视泡从脑外翻出来并接触上部的外胚层，诱导形成一个晶状体基板。(B，C) 随着视泡的自行折叠，上部的外胚层分化成晶状体细胞，晶状体基板变成晶状体泡。(C) 随着晶状体的内化，视泡变成神经视网膜和色素视网膜。(D) 晶状体泡诱导上部的外胚层变成角膜（A ～ C 图来自 Hilfer and Yang 1980， 由 S. R. Hilfer 提供；D 图由 K. Tosney 提供）。

16.1.2 眼场的形成：视网膜的起点

眼发育的细节能使我们了解眼如何只在头部形成，以及在正常情况下为什么只形成两只眼。这些细节显示，眼的精确排列是多层次诱导事件的结果，涉及时间和位置上基因表达的差异。这个故事起始于**眼场**（**eye field**）在神经管前部的形成。神经管的前部（这一区域的骨形态发生蛋白和 Wnt 途径受到抑制）被 *Otx2* 基因的表达所特化。头蛋白的作用尤为重要，因为它不仅抑制骨形态发生蛋白（因此使 Otx2

能够表达），而且还抑制转录因子 ET 的表达（在眼场表达最早的蛋白质之一）。然而，一旦 Otx2 蛋白在头部的腹侧积累，它将阻断头蛋白对 *ET* 基因的抑制能力，这样，ET 蛋白就能够表达。

ET 调控的基因之一是 *Rx*，它的产物能够帮助特化视网膜。Rx（"retinal homeobox"，"视网膜同源异形框"）是一个转录因子，它的作用首先是抑制 *Otx2* 的表达（因为 Otx2 已经完成了它的工作，这时可能会干扰正常发育），其次是激活 *Pax6*——一个在神经板前部对眼场形成有重要作用的基因（**图 16.5A ~ C**；Zuber et al. 2003；Zuber 2010）。Pax6 蛋白对晶状体和视网膜的特化尤为重要；的确，在所有动物门，不管是脊椎动物还是无脊椎动物，它似乎都是特化感光细胞的一个共同要素（Halder et al. 1995）。

携带 *Pax6* 功能缺失杂合突变的人和小鼠具有小眼，而携带纯合突变的小鼠和人（以及果蝇）则完全没有眼，像 *Rx* 突变体小鼠一样（**图 16.5D**；Jordan et al. 1992；Glaser et al. 1994；Quiring et al. 1994）。在果蝇和脊椎动物中，Pax6 蛋白启动一系列功能重叠的转录因子的表达（如 Six3、Rx、Sox2）。这些转录因子相互激活，使前脑腹侧中央产生一个单一的眼场（**图 16.5E**；Tetreault et al. 2009；Fuhrmann 2010）。但是，最后的结果是在头的更外侧形成两只眼。将脊椎动物的单个眼场分隔成两个对称分布的眼场的主要参与者是我们的老朋友 Sonic hedgehog（Shh）。

来自索前板的 Shh 抑制 *Pax6* 基因在神经管中央的表达，从而分隔出两个眼场（**图 16.6**）。如果小鼠

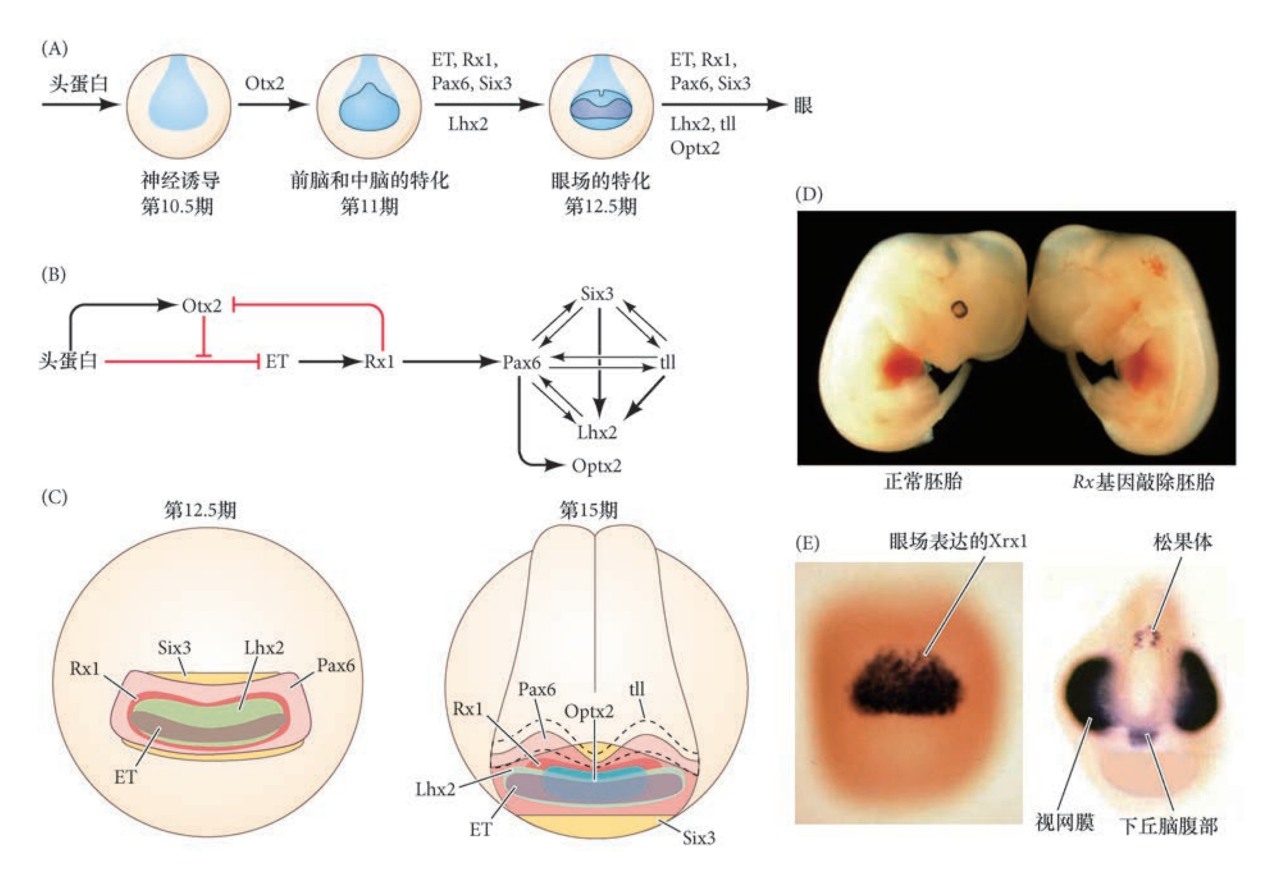
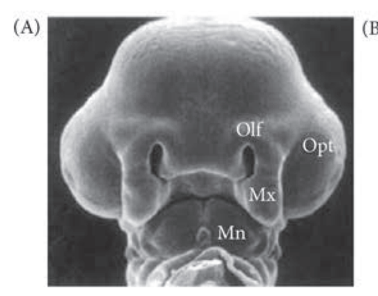
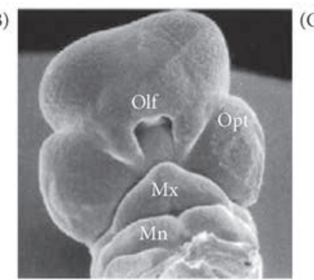
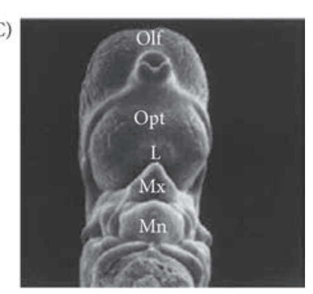


图 16.5　神经板前部眼场的动态形成。（A）眼场的形成。浅蓝色代表神经板；中等程度的蓝色表示 *Otx2* 基因的表达区域（前脑）；深蓝色显示眼场正在前脑形成的区域。（B）一些转录因子的动态表达引起眼场的特化。在第 10 期前，头蛋白抑制 *ET* 的表达但却促进 *Otx2* 的表达。然后 Otx2 蛋白阻断头蛋白信号对 *ET* 的抑制。这样产生的 ET 转录因子便激活 *Rx* 基因，它编码的转录因子阻断 *Otx2* 的表达但促进 *Pax6* 的表达。Pax6 蛋白启动一系列基因的表达，从而建立眼场（右侧）。（C）转录因子在第 12.5 期（早期神经胚）和第 15 期（中期神经胚）非洲爪蛙胚胎新生眼场的表达位置，显示同中心组织的一些转录因子呈现出逐渐变小的表达区域：Six3>Pax6>Rx>Lhx2>ET。（D）正常小鼠中眼的发育（左侧）和 *Rx* 基因被敲除的小鼠胚胎中眼的缺失（右侧）。（E）非洲爪蛙的 *Xrx1* 基因在早期神经胚（左侧）的单个眼场，以及在刚孵化的蝌蚪（右侧）的两个视网膜中（以及松果体，一个含有预定视网膜样感光细胞的器官）的表达图式（A ～ C 图参考 Zuber et al. 2003；D 图和 E 图参考 Bailey et al. 2004，由 M. Jamrich 提供）。







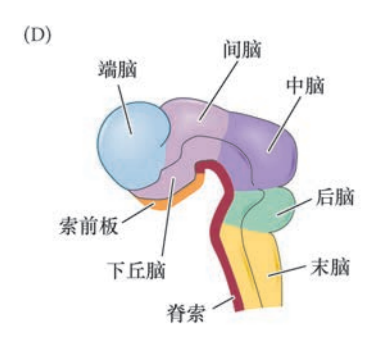
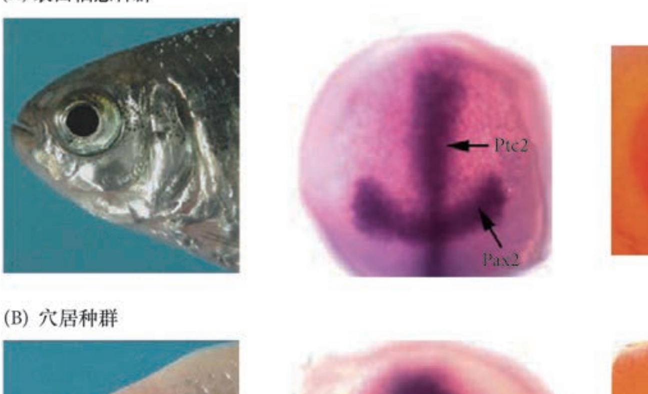
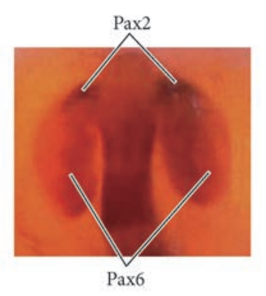


图 16.6 Sonic hedgehog 将眼场分隔成两个侧场。蒜藜芦碱（jervine）是在一些植物中发现的一种生物碱，抑制内源的 Shh 信号。（A）扫描电镜显微照片显示正常小鼠胚胎的外部面部特征。（B）暴露于 10 μmol/L 蒜藜芦碱的小鼠胚胎呈现出不同程度的中线组织缺失，并导致成对的侧嗅突（Olf）、视泡（Opt）、上颌突（Mx）和下颌突（Mn）发生融合。（C）完全融合的小鼠视泡和晶状体（L）导致独眼。（D）示意图展示第 12 天的小鼠胚胎中索前板（Shh 的源头）的位置（A ～ C 图来自 Cooper et al. 1998，由 P. A. Beachy 提供）。

的 *Shh* 基因发生突变，或者这个蛋白质的加工被抑制，那么位于中间的单个眼场将不会分开。结果是形成**独眼**（**cyclopia**），在面部中央出现一只眼，通常位于鼻的下方（见图 16.6C；Chiang et al. 1996；Kelley et al. 1996；Roessler et al. 1996）。相反，如果索前板合成过量的 Shh，那么 *Pax6* 基因受到抑制的区域过大，导致眼不能形成。这种现象或许可以解释为什么穴居鱼没有眼。Yamamoto 及其同事（2004）证明，在墨西哥丽脂鲤（*Astyanax mexicanus*）中，表面种群与同物种的无眼穴居种群之间的差别是 Shh 在索前板的表达量。高表达 Shh 的性状可能被穴居鱼选择，因为它产生了更敏感的口腔感应和更大的下颌（Yamamoto et al. 2009）。但是，Shh 也下调 Pax6 的表达水平，导致视杯发育受阻、晶状体细胞凋亡、眼发育停滞（**图 16.7**）。





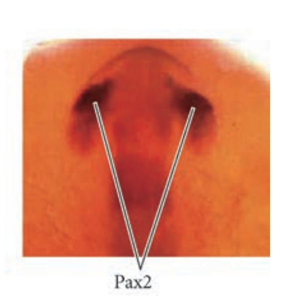


图 16.7 墨西哥丽脂鲤（*Astyanax mexicanus*）的表面种群（A）与穴居种群（B）。在洞穴中生活了上万年的穴居种群没有形成眼（右上）。*Ptc2* 和 *Pax2* 能应答 Shh 信号，相对于表面栖息的种群，这两个基因在穴居鱼胚胎中有更广的表达范围（中间）。表面栖息鱼胚胎的视泡（底部）呈现正常的大小并具有较小的 *Pax2* 表达区域（表征视杆细胞）。穴居鱼胚胎的视泡（*Pax6* 通常表达的位置）变得很小，*Pax2* 的表达区域以缩小 *Pax6* 的表达范围为代价而扩大（来自 Yamamoto et al. 2004；照片由 W. Jeffery 提供）。

16.1.3 晶状体 - 视网膜诱导级联反应

一旦眼场被分隔，两个侧眼场如何进一步发育成眼？脊椎动物眼形成的现代研究起始于 Hans

Spemann（1901），他发现，如果在胚胎的一侧破坏神经板前部，这一侧将不能形成晶状体。神经板中的某种东西对晶状体的发育是必要的。不久之后，Warren Lewis（1904）发现，当他把神经管前部置入头部表皮其他区域的下方时，这段神经管能变成视网膜，与其接触的外胚层变成晶状体。新近的研究（见 Grainger 1992；Ogino et al. 2012）表明，虽然这个故事更为复杂，但神经板前部的眼场能诱导其上部的表皮变成晶状体，在晶状体开始形成时，它反过来诱导眼场变成视网膜。眼的发育是交互胚胎诱导的一个极好例证（图 16.8）。

如前所述，表皮组织必须对预定视网膜细胞发出的信号具有应答能力。Jacobson（1963，1966）的研究表明，能够应答眼场的表皮在原肠胚形成过程中经过咽内胚层和形成心脏的中胚层时受到这两种组织

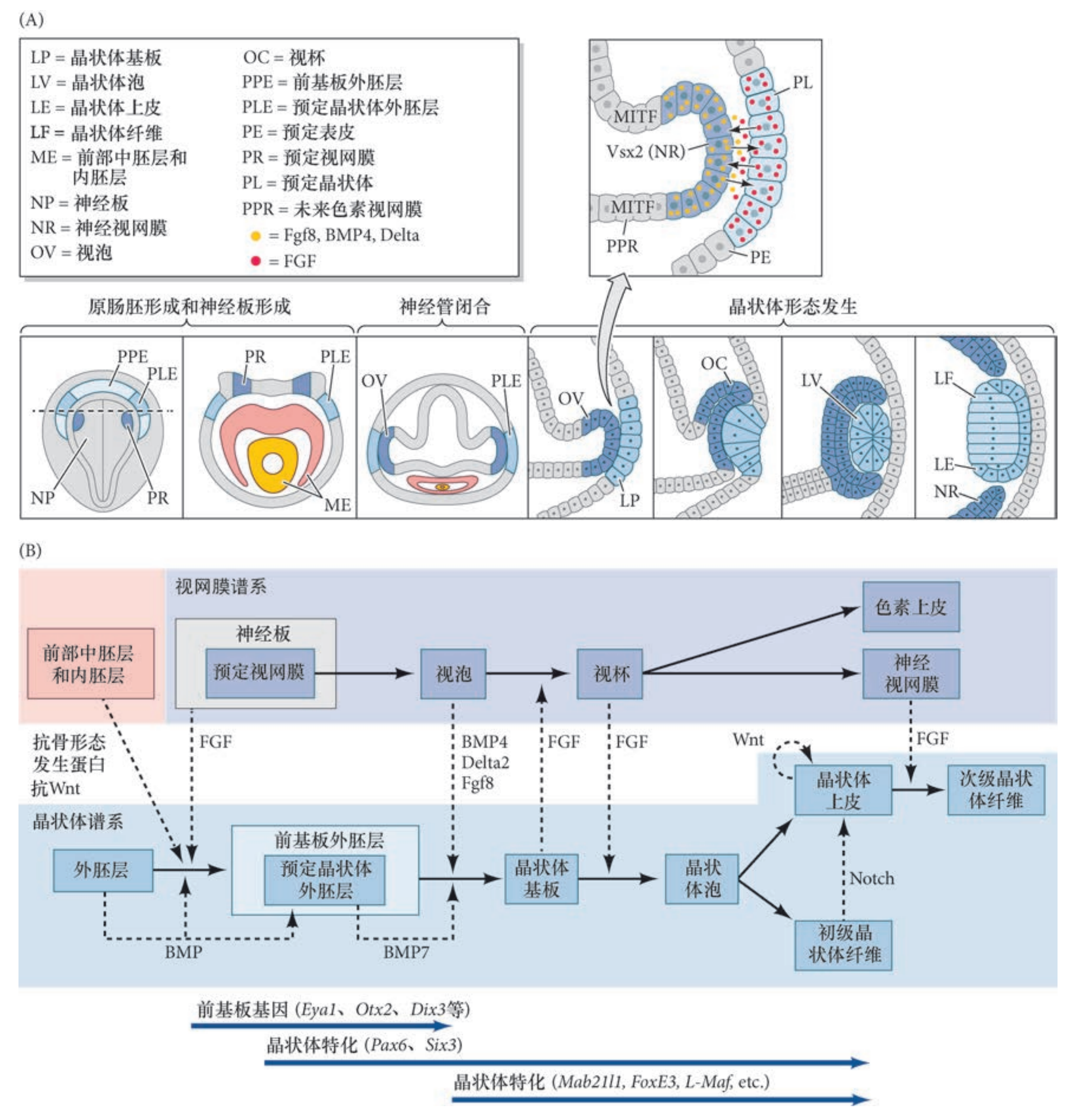


图 16.8　发育中的晶状体基板和来自脑的视泡之间的交互胚胎诱导。（A）图解展示原肠期到晶状体形态发生的主要解剖学变化。这些相互作用起始于预定晶状体外胚层受到神经板、心脏中胚层和咽中胚层的影响。之后，视泡（来自间脑的隆突）接触预定晶状体外胚层，这引发一系列将视泡转变成一个双层视杯的相互作用，视泡也将视杯的内层转变成神经视网膜，并使晶状体基板内卷形成晶状体泡。放大的插图（右上）显示视泡和晶状体基板的预定晶状体细胞之间的关键性相互作用。（B）参与晶状体发育的一些旁分泌因子。在不同的时期和不同的组织可能表达不同成纤维细胞生长因子及它们的受体。下部的三个箭说明一些基因在所示的时间范围内在预定晶状体中的表达。BMP：骨形态发生蛋白；FGF：成纤维细胞生长因子；MITF：小眼畸形相关转录因子（参考 Ogino et al. 2012）。

的影响。这些正在发育的器官可能为这个区域提供阻断骨形态发生蛋白和 Wnt 途径的拮抗剂，并且这些未成熟的器官可能对诱导 *Pax6* 基因及其他外胚层前部特异基因至关重要（Donner et al. 2006）。同时在脑部，随着 Rx 蛋白对神经生长蛋白样细胞黏附分子基因（其细胞表面产物调节前脑腹侧视网膜前体细胞的外翻）的激活，前脑腹侧的两个眼场外翻（Brown et al. 2010）。这些外翻部分变成视泡。当视泡细胞接触外胚层表面时，两个组织都发生了变化。视泡细胞紧靠外胚层变扁，并产生骨形态发生蛋白 -4、成纤维细胞生长因子 -8 和 Delta（Ogino et al. 2012）。这些诱导物指令表面外胚层细胞延长和变成晶状体基板细胞。这些外胚层表面细胞变成晶状体基板时，它们分泌一些成纤维细胞生长因子，指令相邻的视泡细胞激活 *Vsx2* 基因（视觉系统同源异形框 -2，神经视网膜的一个标志基因）的表达。环围视泡的真皮间充质指令大多数外层视泡细胞表达小眼畸形相关转录因子的基因，这个基因能够激活黑色素的生成（Burmeister et al. 1996；Nguyen and Arnheiter 2000）。因此，视泡的最远端细胞（那些接触表面外胚层的细胞）受到变成神经视网膜的指令，而邻近这个区域的细胞受到变成色素视网膜的指令（见 Fuhrmann 2010）。

一旦眼场被特化并被分隔成两个侧眼场，视杯的大部分发育过程呈现出很大程度的自主性。在小鼠中，一个均质的胚胎干细胞群体在含有适当旁分泌因子的三维细胞外基质上能产生一个视泡。它将首先形成一个外胚层球，然后再产生一个具有内壁和外壁的“芽”。它们通过相互作用使外壁分泌 Wnt 并特异表达小眼畸形相关转录因子及黑色素。也就是说，它将变成色素视网膜细胞。同时，内层被特化成神经视网膜，特异地表达转录因子 Six3 和 Chx10 等。而且，在没有任何外部压力的情况下，这个视泡将内陷形成视杯，并且内层部分将分化成一个视网膜样的结构，含有各种主要的视网膜神经元类型，包括一些光感受器。这表明眼场一旦形成，神经视网膜和色素视网膜将彼此分离（图式化），内在的细胞形状变化（形态发生）使视网膜折叠，神经视网膜细胞将以正确的空间排列分化成不同的神经元类型（分化）（Eiraku et al. 2011；Sasai et al. 2013）。

然后视泡黏附于晶状体基板并改变自身的形状以形成视杯。预定神经视网膜黏附于晶状体基板，将其拉入胚胎的内部，而视杯的外壁变成色素视网膜。来自视杯的成纤维细胞生长因子在晶状体基板中激活一组新的基因，将基板转变为将要进一步分化成晶状体细胞的晶状体泡。

16.1.3.1　晶状体和角膜的分化

晶状体组织向一个能够引导光线到达视网膜的透明膜的分化涉及细胞结构和形态的变化，以及透明和晶状体特异性蛋白的合成，这些蛋白质称为**晶体蛋白**（**crystallin**）。晶体蛋白占晶状体中可溶性蛋白的 90%。晶状体细胞必须适当弯曲，Rho 蛋白介导的微丝顶端收缩与 Rac 蛋白引起的使微丝沿顶 - 基轴延伸的肌动蛋白聚合之间的平衡使这种弯曲得以产生（Chauhan et al. 2011）[1]。

含有晶体蛋白的后端初级纤维细胞最终伸长并填满晶状体泡的内腔（**图 16.9A，B**；Piatigorsky 1981）。晶状体泡的前端细胞组成一个继续分裂的生发上皮。这些分裂的细胞向晶状体泡的赤道移动，在经过赤道区时，它们也开始伸长而形成次级纤维细胞（**图 16.9C，D**）。在成熟过程中，这些纤维细胞失去它们的细胞器，细胞核被降解。这样，晶状体就包含了三个区域：分裂的上皮细胞组成的一个前区，细胞伸长组成的赤道区，以及含有晶体蛋白的纤维细胞所组成的后部和中央区。因为晶状体赤道区的上皮细胞分化成新的次级纤维，不断添加到晶状体上，这种排列维持在动物的整个生命周期（Papaconstantinou 1967）。

形成晶状体组织的初始分化需要视泡与预定晶状体外胚层之间的接触。除了防止神经嵴细胞抑制外胚层前部内在的晶状体特化倾向之外，这种接触似乎能使视泡表达的 Delta 蛋白激活预定晶状体外胚层的 Notch 受体（Ogino et al. 2008）。Notch 的细胞内结构域结合到 *Lens1* 基因的一个增强子元件，在有转录因

[1] 你们可能会想起第 4 章的内容，Rac 和 Rho 是 Rho 家族的两个 G 蛋白酶，通过重组细胞骨架亚基来调细胞的形态和运动性。Rho 通常参与调节细胞的收缩性，而 Rac 主要影响细胞生长和铺展。我们在本书中将会多次看到这些互相拮抗的细胞骨架调节物。

子 Otx2（表达在整个头部区域）的情况下，*Lens1* 被激活。Lens1 蛋白自身就是一个转录因子，对上皮细胞的增殖（产生晶状体基板），以及后来对晶状体泡的闭合有必不可少的作用。在这种相互作用中，我们看到了整个发育过程中都会出现的一个原则，即一些转录因子（如 Otx2）特化一个特定的区域，并为一些细胞在这个区域应答一个更特异的诱导（如 Notch）提供反应能力。

来自视泡的一些旁分泌因子也诱导晶状体特异性转录因子。晶体蛋白基因的表达受 Pax6、Sox2 和 L-Maf 的调控（**图 16.9E**）。与 Otx2 一样，Pax6 在晶状体形成之前就表达在整个头部外胚层，Sox2 受视泡分泌的骨形态发生蛋白 -4 所诱导而表达在晶状体基板。*Pax6* 和 *Sox2* 在相同细胞中的同时表达启动晶状体的分化并激活晶体蛋白基因的表达。晚于 Sox2，L-Maf 的表达受视泡分泌的成纤维细胞生长因子 -8 所诱导，它对晶体蛋白基因表达的维持和晶状体纤维分化的完成是必需的（Kondoh et al. 2004；Reza et al. 2007）。

从外胚层表面脱离下来之后，晶状体泡立即刺激其上部的外胚层变成角膜。这种转化所必需的一些分子可能是抑制 Wnt 的 Dickkopf 蛋白和 Wnt 诱导的β- 联蛋白。小鼠的 *Dickkopf-2* 基因发生功能缺失突变时，角膜上皮变成头部表皮组织（Mukhopadhyay et al. 2006）。预定角膜细胞分泌一些胶原蛋白层，能使神经嵴细胞进行迁移并生成新的细胞层，同时也分泌角膜特异性细胞外基质（Meier and Hay 1974；Johnston et al. 1979；Kanakubo et al. 2006）。这些细胞致密形成多个扁平细胞层，最后变成角膜前体细胞（见图 16.9A；

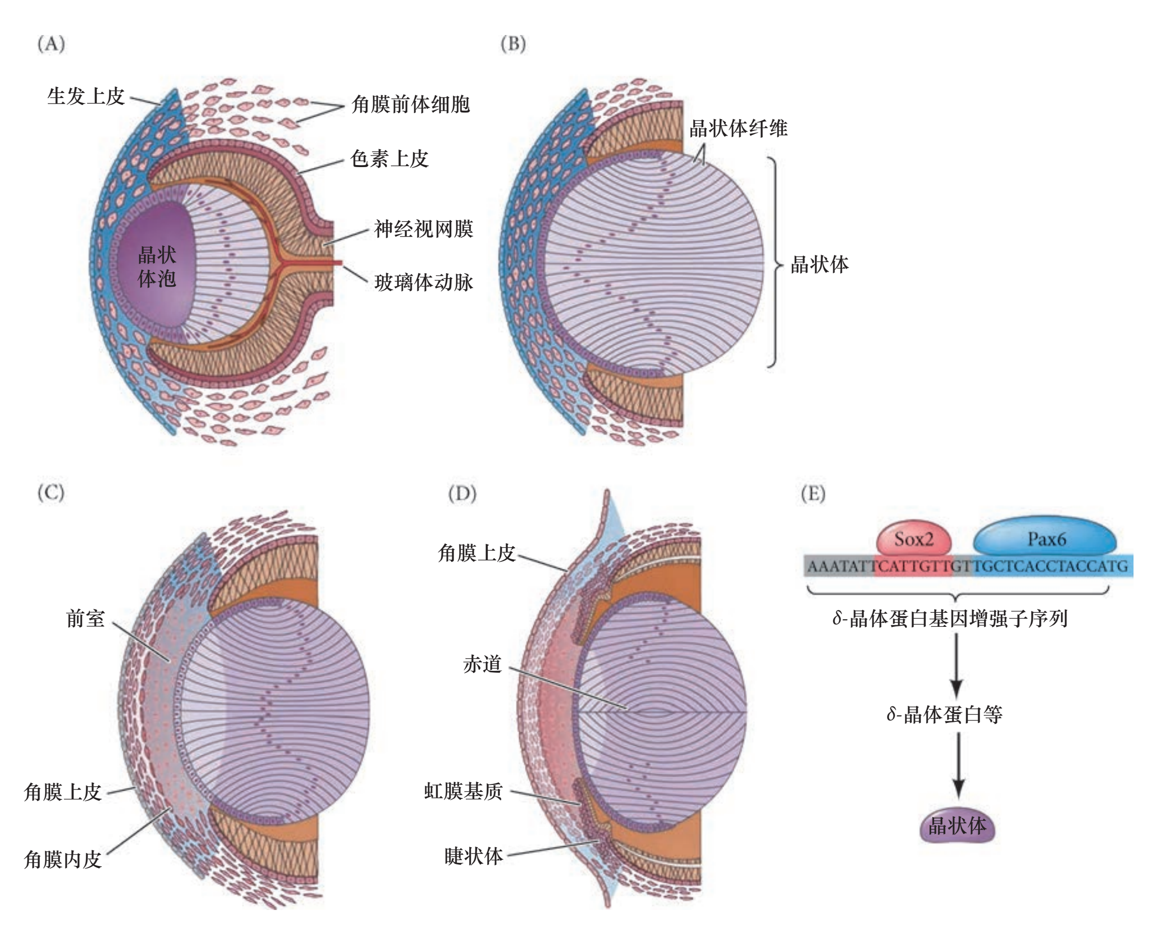


图 16.9 晶状体和小鼠眼前部的分化。(A) 在胚胎发育的第 13 天，晶状体泡从表面外胚层脱离并内陷入视杯。来自神经嵴的角膜前体（间充质细胞）迁移到这个空间。内部晶状体细胞开始伸长，产生初级晶状体纤维。(B) 在第 14 天，晶状体充满了合成晶体蛋白的纤维细胞。在晶状体和表面外胚层之间，神经嵴来源的间充质凝聚成多层。(C) 在第 15 天，晶状体从角膜层脱离，产生一个前腔。(D) 位于前端的表面外胚层变成角膜上皮，在第 15.5 天，角膜层分化并开始变得透明。视杯的前缘扩大形成一个包含虹膜肌和睫状体的非神经区域。新的晶状体细胞来自晶状体上皮的前部。随着晶状体的生长，初级晶状体细胞的核退化，新的晶状体纤维从侧部的上皮生长。(E) 转录因子 Sox2 和 Pax6 紧密结合在 δ- 晶体蛋白基因增强子的一个小区域（A ～ D 图参考 Cvekl and Tamm 2004；E 图参考 Kondoh et al. 2004）。

Cvekl and Tamm 2004）。随着这些细胞的成熟，它们脱水并在细胞之间形成紧密连接，与表面外胚层一起变成角膜（Kurpakus et al. 1994；Gage et al. 2005）。房水产生的眼内压对正确的角膜曲率是必需的，它使光线能够聚焦到视网膜（Coulombre 1956，1965）。

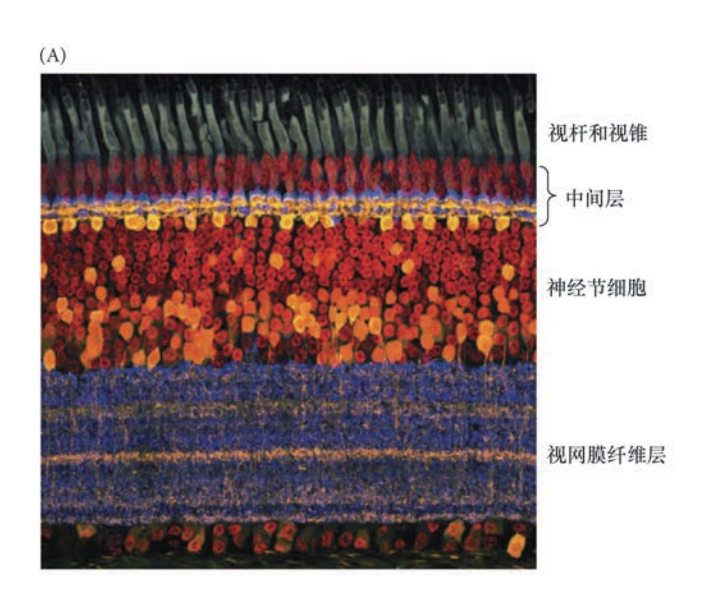
因为角膜与表皮一样都暴露在外部，所以它的修复和再生极为关键。角膜面临的主要问题是能够破坏 DNA 和蛋白质的活性氧类（ROS；见第 23 章）。活性氧类的主要来源是羊水（胚胎期）和紫外线（成年期）。一种保护机制是结合铁离子的铁蛋白（Linsenmeyer et al. 2005；Beazley et al. 2009）；另一种保护方式是在一个个体的整个生命周期中持续更新角膜上皮细胞的一层基底细胞。在人类，角膜边缘有持久干细胞，参与角膜修复并能再生角膜（Cotsarelis et al. 1989；Tsai et al. 2000；Majo et al. 2008）。这个区域的细胞也分泌 Dickkopf 以阻止它们变成表皮细胞（Mukhopadhyay et al. 2006）。

16.1.3.2 神经视网膜的分化

像大脑和小脑皮质一样，神经视网膜发育成不同神经元类型的分层阵列（**图 16.10A**）。在哺乳动物中，这些细胞层包括光敏感和颜色敏感的光感受器细胞（视杆细胞和视锥细胞）、神经节细胞的胞体，以及将视杆和视锥细胞的电刺激信号传递到神经节细胞的双极神经元（**图 16.10B**）。此外，视网膜中还有众多保持其完整性的苗勒氏胶质细胞、无长突神经元（缺乏大的轴突），以及在视网膜平面上传递电脉冲的水平神经元。

视网膜的成神经细胞似乎有能力产生所有的视网膜细胞类型（Turner and Cepko 1987；Yang 2004）。在两栖类，一个局限性多能干细胞所产生的神经元类型似乎取决于基因翻译的时间点。例如，光感受器神经元通过表达 *Xotx5b* 基因而被特化，而 *Xotx2* 和 *Xvsx1* 的表达对双极神经元的特化很关键。有趣的是，这三个基因在所有的视网膜细胞中被都转录，但它们却被差异地翻译成蛋白质。那些在胚胎第 30 期出生

(A)



(B)

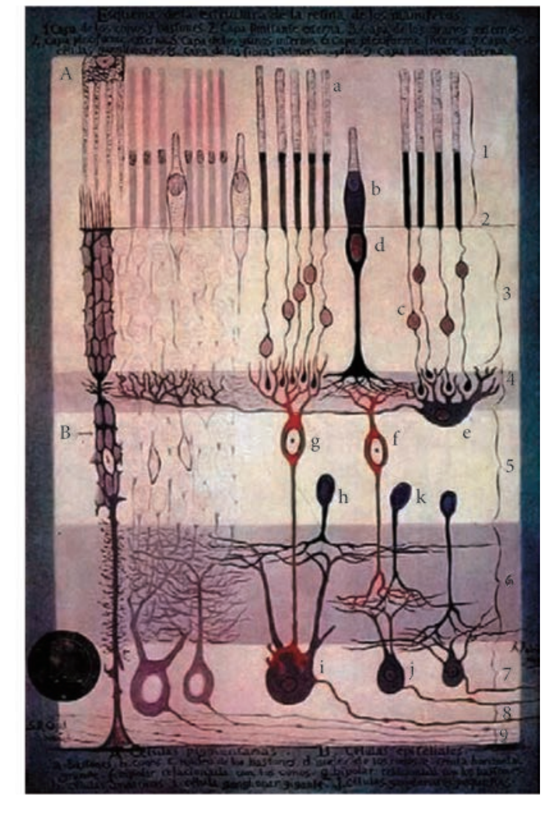


图 16.10 视网膜神经元在发育过程中分选为功能层。（A）荧光标记的鸡胚视网膜的共聚焦显微照片，显示三层神经元和它们之间的突触。（B）Santiago Ramón y Cajal 在 1900 年绘制和标注的哺乳动物视网膜。数字标记：1，感光层；2，外界膜；3，外颗粒层；4，外网层；5，内颗粒层；6，内网层；7，神经节细胞层；8，视神经纤维层；9，内界膜。字母标记：A，色素细胞；B，上皮细胞；a，视杆；b，视锥；c，视杆核；d，视锥核；e，大水平细胞；f，视锥缔合双极细胞；g，视杆缔合双极细胞；h，无长突细胞；i，巨大神经节细胞；j，小神经节细胞（A 图由 A. J. Fischer 提供；B 图由 Instituto Cajal，CSIC，Madrid 提供）。

的神经元翻译 *Xotx5b* 的 mRNA 并变成光感受器，而那些在胚胎第 35 期出生的神经元翻译 *Xotx2* 和 *Xvsx1* 并变成双极中间神经元（Decembrini et al. 2006，2009）。这种时间依赖性的翻译调节受一些微 RNA 的介导。

不是所有的视杯细胞都变成神经组织。位于晶状体两侧的视杯末端细胞发育成一个肌肉性组织的色素环，称为**虹膜**（**iris**）。虹膜肌控制瞳孔的大小（并赋予不同个体独有的眼睛颜色）。在神经视网膜和虹膜之间的交界处，视杯细胞分化形成**睫状体**（**ciliary body**）。它分泌**房水**（**aqueous humor**），这种液体参与晶状体的滋养，产生压力以稳定眼睛的曲率，同时维持晶状体与角膜之间的恒定距离。

网络话题 16.3　**为什么婴儿的视力不好？**　视网膜的光感受器在出生时还没有完全发育成熟，但其密度和分辨能力随着儿童的生长而增加。

16.2　表皮及其皮肤附属器

皮肤——一个坚韧、具有弹性和防水的膜，是我们身体中最大的器官。哺乳动物的皮肤有三种主要成分：①一个分层的表皮；②一个下部的真皮，由松散的成纤维细胞组成；③神经嵴来源的黑素细胞，驻留在基底表皮和毛囊。正是这些黑素细胞（在第 15 章讨论过）提供了皮肤的色素沉着。另外，在真皮下还有一个皮下脂肪层。而且，皮肤一直持续不断地更新。这种再生能力是因为有一个终生维持的表皮干细胞群体。

16.2.1　表皮的来源

表皮来自神经胚期之后覆盖胚胎的外胚层[2]细胞。如第 13 章所述，这个表面外胚层被骨形态发生蛋白诱导形成表皮而不是神经组织。骨形态发生蛋白促进表皮的特化，同时诱导一些阻断神经途径的转录因子（见 Bakkers et al. 2002）。我们再次看到一个组织的特化阻断另一个组织的特化的原则。

表皮最初只有一层细胞，但在大多数脊椎动物中，它很快就变成了一个双层结构。外层产生**周皮**（**periderm**），这是一个临时性覆盖物，在内层分化成一个真正的表皮时它就会脱落。内层称为**基底层**（**basal layer**）或**生发层**（**stratum germinativum**），含有附着在基底膜（细胞外基质）上的表皮干细胞，这些干细胞自身也帮助产生基底膜（**图 16.11**）。正如神经干细胞一样，这种分化受 Notch 途径的正向调控（Nguyen et al. 2006；Aguirre et al. 2010）。在没有 Notch 信号的情况下，分裂的细胞过度增殖（Ezratty et al. 2011）。Notch 信号促进皮肤特异的角蛋白的合成，并将它们连接到致密的中间丝（Lechler and Fuchs 2005；Williams et al. 2011）。有证据表明，与室管膜层的神经干细胞一样，表皮干细胞也进行不对称分裂。继续附着在基底膜上的子细胞仍然是干细胞，而离开基底膜的细胞向外迁移并开始分化。然而，对称分裂和不对称分裂对表皮的形成及维持可能都有重要作用（Hsu et al. 2014；Yang et al. 2015）。而且，现在还不能确定基底层是否有离散群体的持续性干细胞（Mascre et al. 2012），或者是否所有的基底细胞都具有干细胞样的特性（Clevers et al. 2015）。

基底层的细胞分裂产生更年轻的细胞并将年老的细胞推到皮肤表面。这与神经管“从内到外”的图式化不同，因为神经管中新生成的神经元穿过老的细胞层向外周迁移（但神经细胞不像表皮细胞那样每天都在更新）。合成分化产物后，细胞停止转录和代谢活动。这些分化的表皮细胞，即**角质形成细胞**（**keratinocyte**），紧密结合在一起，产生一层由脂质和蛋白质组成的防水膜。

到达皮肤表面时，角质形成细胞已经是一些死亡和充满角质蛋白的扁平囊。它们的细胞核被推到了

[2] 复习一下词汇，表皮（*epidermis*）是皮肤的外层。外胚层（*ectoderm*）是形成表皮、神经管、基板和神经嵴的那个胚层。上皮性（*epithelial*）指的是紧密维持在一起的一片细胞，与松散连接的间充质性（*mesenchymal*）相反（见第 4 章）。上皮可由任何胚层产生。表皮和神经管只产生于外胚层上皮；消化道的内衬是一个内胚层上皮。

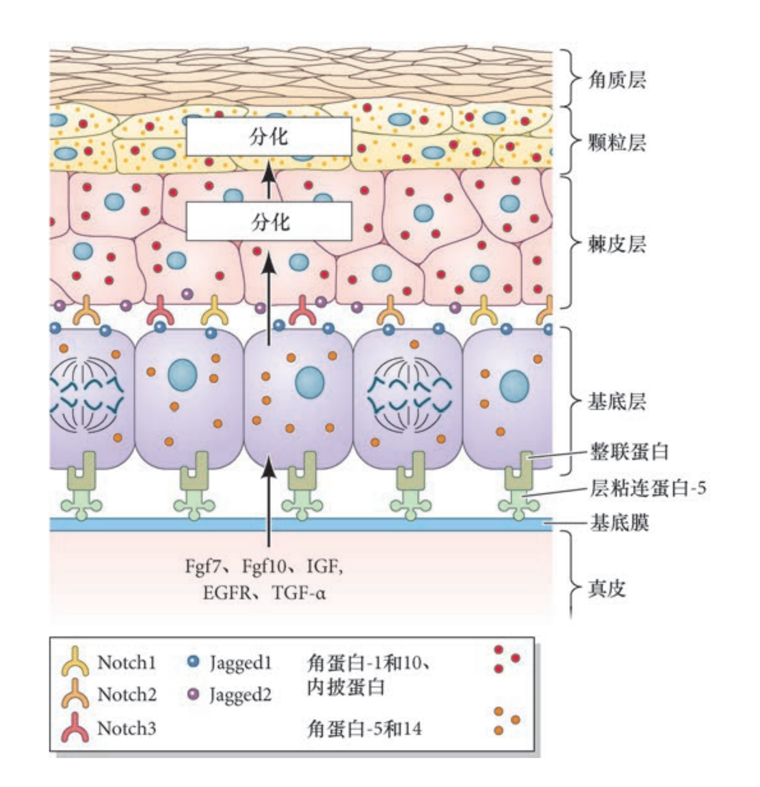


图 16.11 人类表皮的分层和促使哺乳动物皮肤持续再生的信号。基底细胞具有活跃的有丝分裂，而呈现外部皮肤特征的完全角质化细胞已经死亡并持续脱落。自我更新的干细胞驻留在基底层内，它通过整联蛋白黏附在下部富含层粘连蛋白的基底膜，这个基底膜分隔表皮与下部的真皮。真皮的成纤维细胞分泌一些因子，如成纤维细胞生长因子 -7（Fgf7）、成纤维细胞生长因子 -10（Fgf10）、胰岛素样生长因子（IGF）、表皮生长因子和转化生长因子 -α（TGF-α），这些因子促进基底表皮细胞的增殖。增殖性的基底祖细胞产生几排被 Notch 激活的终末分化细胞，它们经历三个阶段，每个阶段都表达特定的角蛋白：棘皮层、颗粒层、从皮肤表面脱落的死亡角质层（参考 Hsu et al. 2014）。

细胞一侧。这些细胞构成**角化层**（**cornified layer**）或**角质层**（**stratum corneum**）。在整个生命过程中，角化层的死亡角质形成细胞脱落[3]，被新的细胞所取代。在小鼠中，从基底层到脱落细胞的旅程大约需要 2 个星期。人类表皮周转得较慢；基底层的增殖能力非常显著，因为在几十年的整个成年生命中，它能供应细胞材料以持续地替换 1 ～ 2 m^2 的皮肤。

有多种因素刺激表皮的发育（见图 16.11）。真皮的成纤维细胞通过产生成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子及命名恰当的表皮生长因子来激活表皮干细胞的分裂（Hsu et al. 2014）。骨形态发生蛋白通过诱导基底层的 p63 转录因子来帮助启动表皮产物的生成。这个转录因子的多重作用可能在一定程度上取决于表皮所表达的各种 p63 剪接异构体。p63 蛋白对角质形成细胞的增殖和分化是必需的（Truong and Khavari 2007），它似乎也刺激 Notch 配体 Jagged 的产生。Jagged 是基底细胞中的近分泌蛋白，能激活其上部细胞的 Notch 蛋白，进而激活角质形成细胞的分化途径并阻止细胞进一步分裂（见 Mach et al. 2005；Blanpain and Fuchs 2009）。因此，Notch 信号对于基底层到棘皮层的转变是必要的。

16.2.2 外胚层附属器

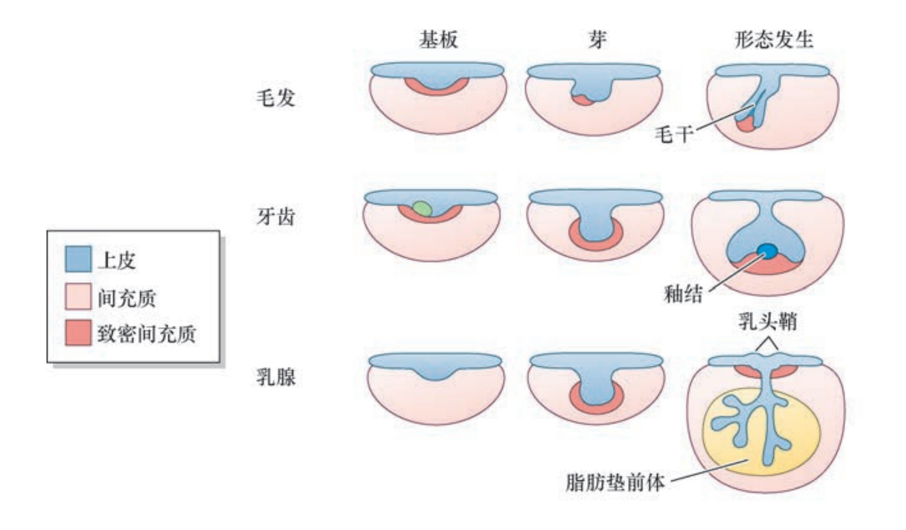
外胚层表皮和间充质真皮在特定部位的诱导性相互作用产生一些**外胚层附属器**（**ectodermal appendage**），如毛发、鳞片、鳞甲（如龟壳的覆盖物）、牙齿、汗腺、乳腺和羽毛，取决于物种和间充质类型。这些附属器的形成需要间充质与外胚层上皮之间的一系列诱导性相互作用，以此形成**表皮基板**（**epidermal placode**），作为这些结构的上皮前体。值得注意的是，像毛发、牙齿和乳腺这些差异巨大的结构在早期发育过程中都遵循相同的图式，并且似乎也受相同的旁分泌因子控制。

在所有这些外胚层附属器中，第一个明显的形态发生标志是上皮的局部增厚，即基板。在躯干和腹部外胚层的许多区域，数千个独立的毛发基板各自发育。在每个颌上都有一个宽的表皮增厚，称为**牙板**（**dental lamina**），它像颅部感觉基板的泛基板期一样，随后分解成独立的基板，每个基板变成一个牙齿

[3] 人每天丢失大约 1.5 g 这样的细胞。大多数这样的皮肤都变成了“室内尘埃”。Notch 信号途径的缺陷与白疕（红癍鳞屑性皮肤病）有关（Kim et al. 2016）。

（见图 16.13）。在腹部外胚层，两条乳腺嵴（或“乳线”）从前肢延伸到后肢。在小鼠中，5 对乳腺基板一般都能在每一侧存活下来，每一个基板变成一个乳腺。在人类，通常只有一对乳腺基板存活下来，尽管有时会有第 3 或第 4 个基板被保留下来，形成额外的乳头。乳腺基板在两种性别中都会形成，但仅在雌性中完全发育（Biggs and Mikkola 2014）。

在基板期之后，有一个出芽期，外胚层在这个过程中生长进入间充质。在基板形成的区域，基板的表层细胞收缩并向共同中心嵌插。这使它们向内皱褶并驱动上皮进入下部的间充质。这种收缩力见于牙、乳腺和毛发基板（Panoutsopoulou and Green 2016）。所有表皮附属器的初始芽看起来都非常相似。然而，这些芽与下部间充质的不断相互作用逐渐产生一些差异。毛囊伸长、内向生长并围绕致密的诱导性间充质生长。牙上皮同样生长进入间充质，并在上皮的中心形成**釉结**（**enamel knot**）。这个信号中心将控制周围细胞的增殖和分化（Jernvall et al. 1996）。乳腺上皮细胞生长穿过诱导性的间充质细胞后，进入正在发育的脂肪垫，在那里产生广泛的分支（**图 16.12**）。



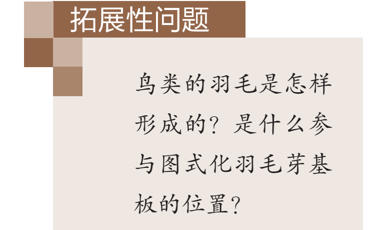


图 16.12　外胚层附属器在多样化和上皮形态发生之前通过共同基板及出芽期产生。图中为毛发（上行）、牙齿（中间）和乳腺（下行）在三个时期的发育图式（参考 Biggs and Mikkola 2014）。

16.2.2.1　重组实验：上皮与间充质的作用

上皮和间充质之间的诱导性相互作用非常特异。通过分离上皮和间充质成分，然后将它们重新组合，20 世纪的发育生物学家能够辨别哪一部分呈现出特异性。例如，从第 10 天小鼠胚胎的颌取出的牙上皮与同时期胚胎中非牙齿的颌间充质组合时引起牙齿的形成。然而，在第 12 天的胚胎中，牙上皮失去了这种能力，而新致密的牙间充质则获得了这种能力（Mina and Kollar 1987）。骨形态发生蛋白的表达图式从上皮到间充质的变化伴随着生牙能力的转换（Vainio et al. 1993）。此外，在这种转换之后，表皮的位置就不是那么重要了。牙间充质可以与足表皮相互作用而产生牙齿（Kollar and Baird 1970）。反向组合则不起作用。在小鼠的颌中，间充质被成纤维细胞生长因子 -8 赋予了形成牙齿的能力，而骨形态发生蛋白则阻止间充质形成牙齿（**图 16.13**；Neubuser et al. 1997）。

类似地，致密的真皮细胞甚至能在通常不产生毛发的上皮（如足底）中诱导毛囊（Kollar 1970）。毛发基板上皮不能诱导新的毛发。早期的小鼠乳腺间充质（而不是上皮）能在头部和颈部的表皮中诱导早期的乳腺形成（Propper and Gomot 1967；Kratochwil 1985）。因此，在毛发、乳腺和牙囊中，致密间充质似乎具有特异的诱导能力。有趣的是，某些皮肤间充质不具有这种诱导基板形成的能力，也就是那些与手掌、足底和外生殖器相关的间充质。在这些位置，*HoxA13* 基因的表达似乎促进了一些旁分泌因子的合成，这些因子诱导外胚层上皮表达特定的角蛋白而不是毛发特异蛋白（Rinn et al. 2008；Johansson and Headon 2014）。

小鼠的乳腺重组实验揭示出发育中显著的性别差异。在雌性小鼠中，乳腺在胚胎中完成第一阶段的

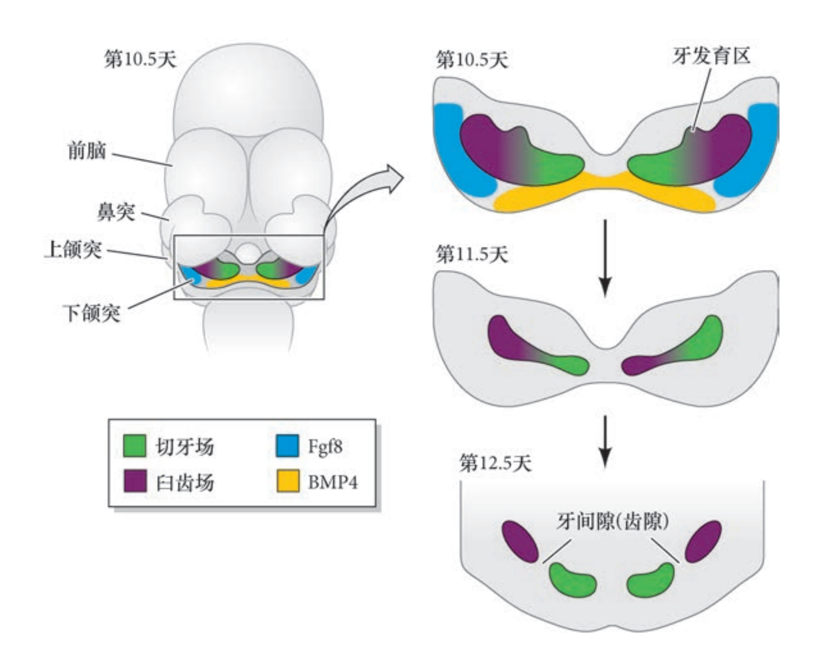


图 16.13 牙板分成切牙和臼齿场。第 10.5 天小鼠胚胎下颌骨的示意图。骨形态发生蛋白 -4（BMP4）和成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）之间的相互拮抗作用被认为能限定口部外胚层的牙场。牙场直到第 11 天都是连续的，但随后分别在颌的远端和近端区域形成切牙和臼齿。这两个区域被一个称为牙间隙的无牙区域所分隔（参考 Ahn 2015）。

发育。像人类的乳腺一样，它通过应答青春期产生的雌激素而完成第二阶段的发育。最后的发育阶段，包括导管的生长及导管分支和末端上产乳细胞的分化，是在妊娠期间完成的。然而，在雄性小鼠中，乳腺发育则被阻止在萌芽状态。在基板表皮内移不久，间充质细胞即在其周围致密。间充质细胞似乎将上皮原基拉伸并将雄性乳腺上皮与表皮分开，这样就导致了雄性乳腺上皮部分的死亡。

睾酮使间充质在雄性乳腺芽的茎周围致密。将睾酮添加到体外培养的雌性乳腺中同样能终止它们的发育。而且，使用缺失睾酮受体的小鼠进行重组实验后显示，睾酮仅作用于间充质细胞，指令它们破坏雄性乳腺原基（图 16.14；Kratochwil and Schwartz 1976；Durnberger et al. 1978）。然而，在人类，乳腺管在男性中的发育并没有被中断，男性乳腺能够发育并且直到青春期都采取女性的图式。那时，雌激素水平的增高使得女性乳房发育扩张，而男性的雌激素则保持在青春期之前的水平。如果男性被暴露于雌激素化合物（如一些环境激素；见第 24 章），他们的乳房就会扩大，这是一种被称为男子乳腺发育的状态。然而，由于男性不分泌催乳素，乳腺通常不会产乳。

16.2.2.2 信号途径

几乎所有的主要信号途径都参与外胚层附属器的形成（Biggs and Mikkola 2014；Ahn et al. 2015）。在某些情况下，如哺乳动物牙的釉结，同一信号中心几乎分泌所有家族的旁分泌因子（图 16.15）。在小鼠中，经典 Wnt/β- 联蛋白途径成分的缺陷与毛发、牙齿和乳腺的缺失有关联（van Genderen et al. 1994）。如果使胚胎的整个表皮都表达 β- 联蛋白，最终能将整个表皮都转变成毛囊的命运（Narhi et al. 2008；Zhang et al. 2008），并且能在颌上产生额外的牙齿（Jarvinen et al. 2006；Liu et al. 2008）。的确，Wnt 信号途径可能帮助诱导釉结的形成，并且对牙齿的再生能力（在哺乳动物丢失）至关重要（Jarvinen et al. 2006）。缺失 Wnt 途径负调节物的小鼠突变体呈现出更多和更大的乳腺基板（Narhi et al. 2012；Ahn et al. 2013）。

成纤维细胞生长因子可能对外胚层附属器的发育有多重作用。其中之一是调节间充质细胞的迁移，以形成基板下部的致密物。在牙中，来自基板的成纤维细胞生长因子 -8 似乎能将间充质细胞吸引到牙基板并将它们维持在那里（Trumpp et al. 1999；Mammoto et al. 2011）。在毛发中，基板的 Wnt 激活成纤维细胞生长因子 -20 的分泌，这个因子可能刺激间充质细胞向基板迁移（Huh et al. 2014）。在乳腺中，来自体节（可能还有肢芽）的成纤维细胞生长因子 -10 被认为能诱导基板的形成（Mailleux et al. 2002；Veltmaat et al. 2006）。小鼠缺失成纤维细胞生长因子 -10 或其受体的基因时不能形成乳腺基板 1、2、3 和 5（但不知道为什么乳腺基板 4 没有缺失）。

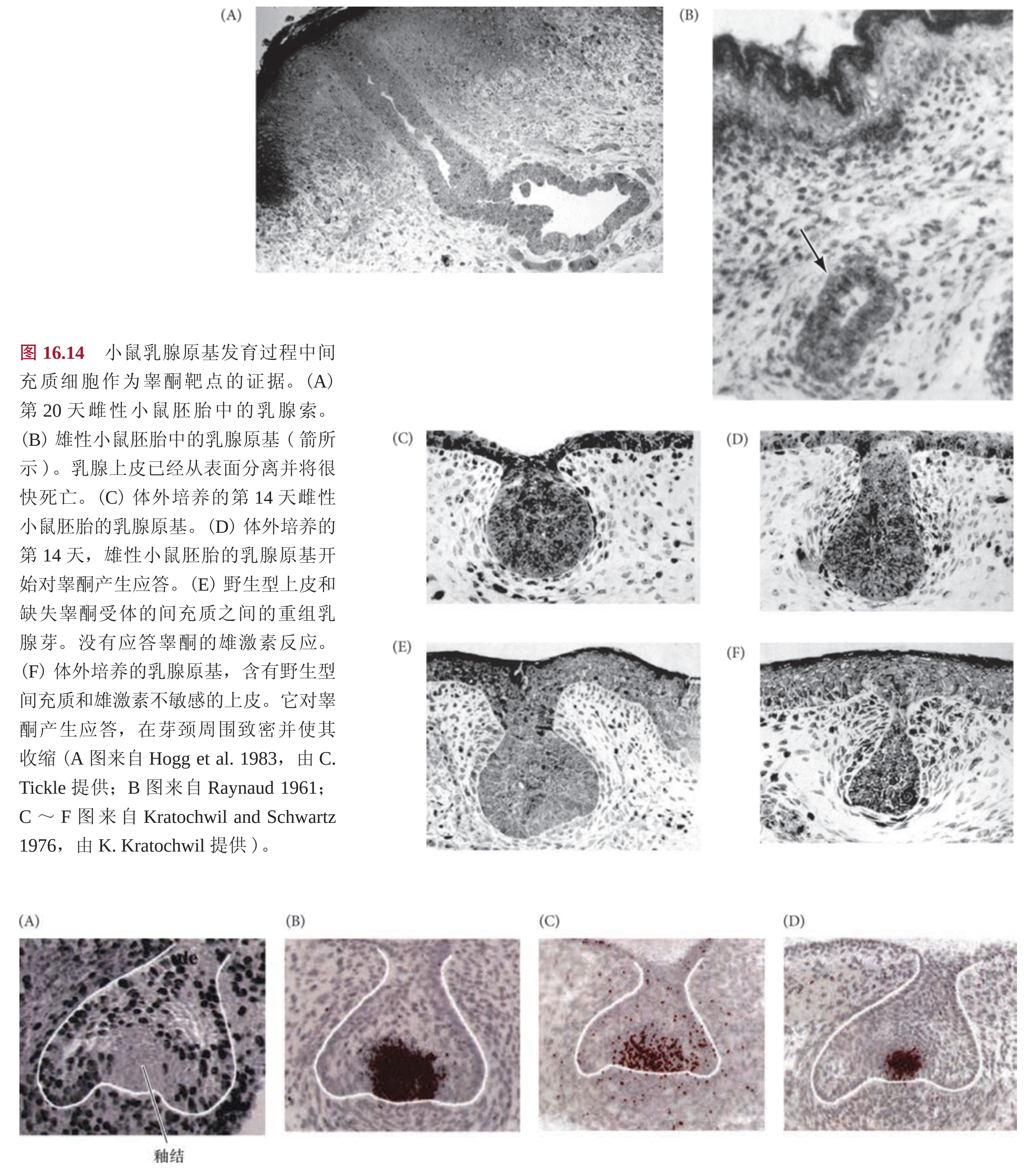


图 16.14　小鼠乳腺原基发育过程中间充质细胞作为睾酮靶点的证据。(A) 第 20 天雌性小鼠胚胎中的乳腺索。(B) 雄性小鼠胚胎中的乳腺原基（箭所示）。乳腺上皮已经从表面分离并将很快死亡。(C) 体外培养的第 14 天雌性小鼠胚胎的乳腺原基。(D) 体外培养的第 14 天，雄性小鼠胚胎的乳腺原基开始对睾酮产生应答。(E) 野生型上皮和缺失睾酮受体的间充质之间的重组乳腺芽。没有应答睾酮的雄激素反应。(F) 体外培养的乳腺原基，含有野生型间充质和雄激素不敏感的上皮。它对睾酮产生应答，在芽颈周围致密并使其收缩（A 图来自 Hogg et al. 1983，由 C. Tickle 提供；B 图来自 Raynaud 1961；C ～ F 图来自 Kratochwil and Schwartz 1976，由 K. Kratochwil 提供）。

图 16.15　哺乳动物的牙齿形成。釉结是指令牙齿形态发生的信号中心。这些照片显示牙齿发育的帽状期，上皮正在向间充质生长。(A) 用放射性 BrdU 标记细胞分裂后显示出一个没有分裂细胞的区域，即釉结。(B ～ D) 原位杂交显示釉结表达一些起始信号级联反应的旁分泌因子的基因。这些基因包括 (B) *Sonic hedgehog*、(C) 骨形态发生蛋白 -7 和 (D) 成纤维细胞生长因子 -4（来自 Vaahtokari et al. 1996，图由 I. Thesleff 提供）。

拓展性问题

龟的鳞甲（覆盖背部和腹部的角质性外板）都呈现出相同的图式，海龟和沙漠陆龟是否具有相同的图式？擅长数学的人可能会问这种图式是如何产生的？

转化生长因子 -β 家族的成员，特别是骨形态发生蛋白，对外胚层附属器的形成也有重要作用。的确，骨形态发生蛋白 -4 从上皮细胞到间充质细胞的表达图式转换协调牙齿形成潜能的转变，并且对从芽到顶帽的过渡至关重要。骨形态发生蛋白能诱导多种参与牙发育的基因（Vainio et al. 1993；Jussila and Thesleff 2012），并且很可能与 Wnt 相互调节来控制牙齿的形状（Munne et al. 2009；O'Connell et al. 2012）。虽然骨形态发生蛋白的表达对牙的形成是必需的，但是它的活性在毛发基板的诱导中必须受到抑制（Jussila and Thesleff 2012；Sennett and Rendl 2012）。

其他信号途径，如 hedgehog 和 ectodysplasin（外胚层发育异常蛋白）启动的信号途径，也有不同程度的作用（Biggs and Mikkola；Ahn 2014）。外胚层发育异常蛋白的途径（激活转录因子 NF-κB）在每一种皮肤附属器中都有活性。在人类（和其他动物），无汗性外胚层发育不良的患者表现有毛发、牙齿和汗腺生长的缺陷（Mikkola et al. 2008）。

网络话题 16.4 **外胚层发育异常蛋白的途径和毛发发育的突变** 一些遗传病能使我们对毛发正常生长的机理有深入的了解。

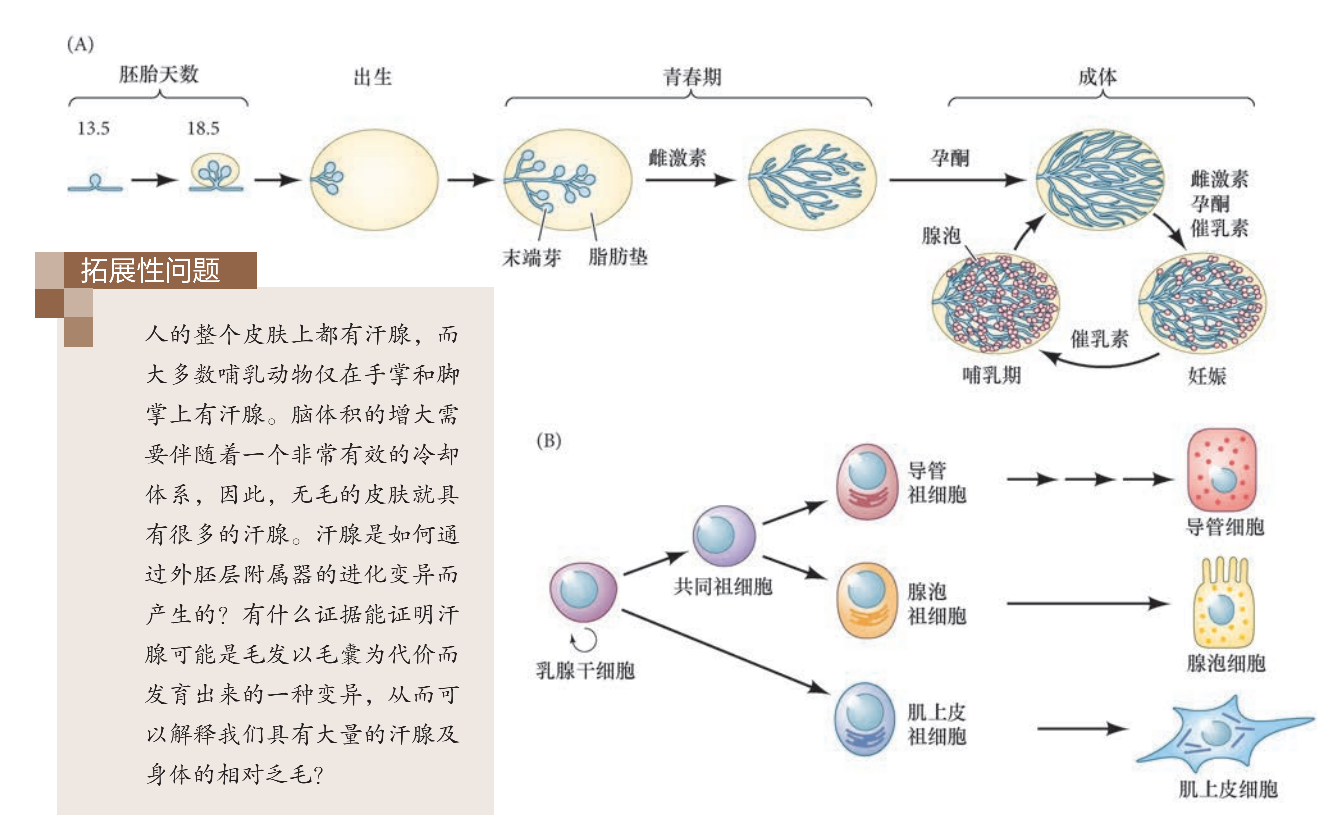
16.2.2.3 外胚层附属器干细胞

在许多情况下，表皮附属器产生或者保留成体干细胞，以便在特定的时间使这些结构能够重新生长。这种干细胞的存在与否在不同物种中有显著的差异。鱼类和爬行类能再生它们的牙齿，但哺乳动物不能。多数哺乳动物有两套牙齿，一套用于儿童（“乳”牙），另一套用于成人（“永久”牙齿）。这两套牙齿在出生前都已经开始发育。一旦我们长出成人牙齿，牙板便衰退，我们就不能再生丢失或损坏的牙齿。尽管人类一劳永逸地形成牙齿（要记住在人类的大部分历史上，多数人都在 40 岁之前死亡），但其他哺乳动物，包括啮齿类和大象，却有持续生长的牙齿（Theleff and Tummers 2009）。在持续生长的小鼠切牙中，有一个保留了上皮细胞的干细胞微环境，能不断产生形成釉质的成釉细胞。在一些爬行动物中，如短吻鳄，一部分牙板被保留下来，它含有的上皮干细胞能够再生失去的牙齿。当牙齿脱落时，这些细胞积累 β- 联蛋白，但失去 Wnt 抑制物（Wu et al. 2013）。

乳腺（我们所属的脊椎动物纲就是以此命名的）中含有一些干细胞以便在青春期和妊娠期重新激活它的生长（**图 16.16A**）。在青春期，雌激素引起导管的广泛分支和**末端芽**（**terminal end bud**）的伸长。在妊娠期间，导管在孕激素和催乳素的刺激下形成一些能进一步分化成产乳泡的三级侧支（Oakes et al. 2006；Sternlicht et al. 2006）。哺乳动物的乳腺可能含有能够产生所有乳腺谱系的一种干细胞。对乳腺细胞进行遗传标记的结果（Rios et al. 2014；Wang et al. 2015）说明可能只有一种干细胞类型，能产生乳房中的两种主要祖细胞：一种能产生导管和腺泡，另一种能产生肌上皮细胞，这些细胞通过收缩将乳汁从腺泡挤向乳头（**图 16.16B**）。

研究最为深入的表皮附属器干细胞是毛发干细胞。似乎有三组干细胞群体参与形成表皮结构。在前面讨论过一组存在于表皮的生发层能够产生具有毛囊间表皮特征的角质形成细胞。第二组干细胞对于产生每根毛干的皮脂腺至关重要。第三组干细胞对于毛干本身的再生具有关键作用。有趣的是，似乎还有一种能形成其他所有细胞的原始干细胞（Snippert et al. 2010），如果需要的话，如当皮肤受伤而自我修复时，每一组干细胞的成员都能被招募到任何其他三组的储备（Levy et al. 2007；Fuchs et al. 2008）。

毛发是哺乳动物能够再生的一种结构。在整个生命历程中，毛囊经历**生长期**（**anagen**）、**退化期**（**catagen**）、**休止期**（**telogen**）和再生长的周期。毛发的长度取决于毛囊在生长期所持续的时间。人类的头



拓展性问题

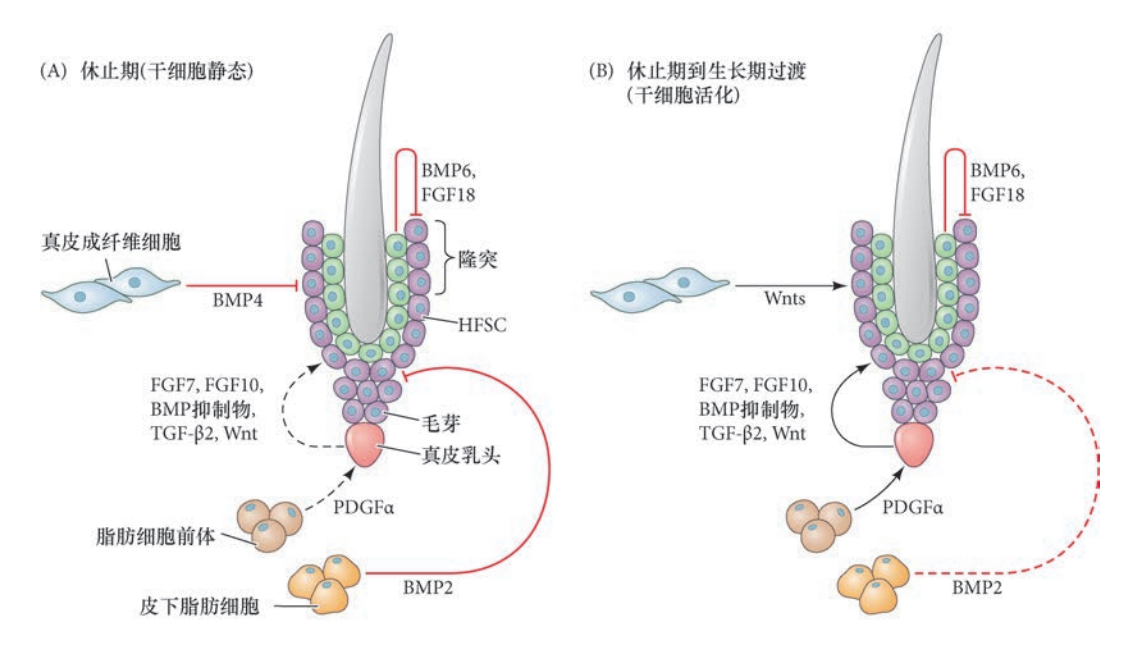
人的整个皮肤上都有汗腺，而大多数哺乳动物仅在手掌和脚掌上有汗腺。脑体积的增大需要伴随着一个非常有效的冷却体系，因此，无毛的皮肤就具有很多的汗腺。汗腺是如何通过外胚层附属器的进化变异而产生的？有什么证据能证明汗腺可能是毛发以毛囊为代价而发育出来的一种变异，从而可以解释我们具有大量的汗腺及身体的相对乏毛？

图 16.16　干细胞和乳房的发育。(A) 小鼠中乳房发育的时期。乳房的发育起始于第 11 天左右。腺体的新生状态一直被保持到青春期，这时导管开始扩张。在妊娠和哺乳期间，腺泡分化并产乳。妊娠后，腺泡发生凋亡，但是在后来的妊娠期还能再生。(B) 乳房中可能的干细胞和祖细胞。乳腺干细胞能产生两种祖细胞（除了产生另一个乳腺干细胞之外）。一种祖细胞产生一些内衬腺泡和导管的收缩性肌上皮细胞，而另一种祖细胞产生导管和腺泡（参考 Visvander and Stingle 2014）。

发可以在生长期持续几年的时间，而臂上汗毛的每个周期只有 6 ～ 12 周。毛囊的再生能力取决于上皮干细胞群体，这些细胞在胚胎发育后期形成于毛囊的永久性**隆突**（**bulge**）区域。Philipp Stöhr 在 1903 年的教科书中绘制人类毛发的组织学结构时，将这个隆突（“Wulst”，德语“凸起”）显示为立毛肌的附着点（立毛肌收缩时使人产生“鸡皮疙瘩”）。在 20 世纪 90 年代进行的研究表明，隆突区域至少有两种成体干细胞类型：**毛囊干细胞**（**hair follicle stem cell**，**HFSC**）产生毛干和鞘（Cotsarelis et al. 1990；Morris and Potten 1999；Taylor et al. 2000）；**黑素干细胞**（**melanocyte stem cell**）产生皮肤和毛发的色素（Nishimura et al. 2002）。隆突似乎是使成体细胞保持“干性”能力的一个重要微环境。隆突中的毛囊干细胞能够再生毛发的所有上皮细胞类型，没有干细胞就不会有新毛囊。但是，如果干细胞被激光选择性地剔除，一些隆突上皮细胞（它们正常情况下不参与毛发生长）便重新填充干细胞群体，并且可以支持毛囊的再生（Rompolas et al. 2013）。

似乎有两种毛囊干细胞群体：隆突中的休眠群体和隆突正下方准备进行分裂的群体。整个皮肤器官似乎都参与毛发的循环（**图 16.17**）。毛囊干细胞驻留在隆突的外层。内层是毛囊干细胞的子代，它们分泌骨形态发生蛋白 -6 和成纤维细胞生长因子 -18（毛囊干细胞增殖的抑制物）。另外，真皮成纤维细胞和皮下脂肪细胞也产生抑制生长的骨形态发生蛋白。毛囊干细胞在生长期的初始阶段被激活。这些信号来自致密间充质的真皮乳头，属于成纤维细胞生长因子、Wnt 和骨形态发生蛋白的拮抗剂，它们指令表皮干细胞迁移出隆突。在那里，表皮干细胞产生向下增殖的祖细胞，并形成 7 个同心柱的细胞，从隆突到基质形成外根鞘。

真皮乳头的激活受真皮微环境的调节。下部的真皮似乎产生更多的 Wnt 和较少的骨形态发生蛋白，而脂肪前体细胞则产生更多的旁分泌因子——血小板源性生长因子，这个因子刺激真皮乳头的生长



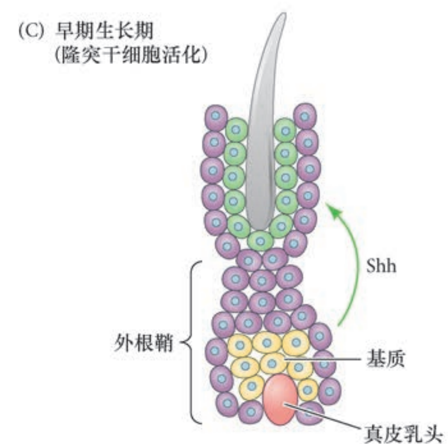


图 16.17 隆突毛囊干细胞（HFSC）对毛干的再生。(A) 在静止期（休止期），真皮乳头的致密间充质接触隆突外层的干细胞（蓝色）。毛囊干细胞处于静止状态，这是因为内隆突层（这些细胞来自隆突外层的毛囊干细胞）产生骨形态发生蛋白 -6（BMP6）和成纤维细胞生长 -18（FGF18），真皮中胚层（成纤维细胞）和脂肪细胞产生其他骨形态发生蛋白。(B) 在休止期向生长期（生长）过渡时，间充质细胞诱导真皮乳头产生毛发生长的激活物（成纤维细胞生长和 Wnt）及骨形态发生蛋白信号的拮抗剂，这样就引起毛囊的增殖和分化。(C) 在基部接触真皮乳头的细胞迅速分裂，产生毛干及其通道。邻近早期隆突的细胞变成隆突的外层并具有干细胞特性。有几层细胞厚度的内层也来自毛囊干细胞，这一层最终抑制毛囊干细胞的增殖。在退化期（未显示），多数细胞发生凋亡，但是保持下来的干细胞在隆突区域继续存活。然后一个上皮链将真皮乳头带到隆突区域，它们之间的相互作用似乎产生了下一代毛发的毛芽。HFSC：毛囊干细胞；TGF-β2：转化生长因子 -β2；PDGF-α：血小板源性生长因子 -α（参考 Hsu and Fuchs 2012；Hsu et al. 2014）。

(Plikus et al. 2008；Rendl et al. 2008；Hsu and Fuchs 2012)。随着真皮乳头被向下生长的上皮细胞移动到更远的位置，干细胞将接收不到它的信号，隆突就恢复到静态。在生长期的后期，前列腺素 PGD_2 似乎阻止祖细胞的产生。在退化期，大部分基底（外根鞘）上皮细胞发生凋亡。但是，上部的毛囊干细胞仍然维持下来。接近旧隆突的外根鞘细胞含有毛囊干细胞，变成外层，而更靠近基质的外根鞘细胞分化成隆突的内层。细胞凋亡使外层细胞与真皮乳头接触，为下一个周期做好了准备 (Hsu et al. 2011；Mesa et al. 2015)。

值得注意的是，隆突干细胞的活化部分地受它们产生的祖细胞所调节。祖细胞分泌的 Sonic hedgehog 对隆突毛囊干细胞的分裂是必不可少的。来自这些细胞的骨形态发生蛋白 -6 和成纤维细胞生长因子信号可能抑制隆突下部的干细胞，而它们分泌的 Shh 则激活隆突干细胞。这意味着祖细胞在分化过程中不仅仅是被动的细胞，它们构成一个能够激活静态隆突干细胞的信号中心（**图 16.18**；也见图 16.17C）。真皮乳头可以通过刺激待发的毛囊干细胞（亚隆突），建立过渡性扩增细胞群体来启动毛发再生，这个祖细胞群体再作为信号中心来维持过渡性扩增细胞扩张所需要的真皮乳头信号。这些过渡性扩增细胞也刺激静态干细胞的增殖。因此，过渡性扩增细胞调节它们自身、待发毛囊干细胞和静态毛囊干细胞的增殖，从而协调毛囊的再生 (Hsu et al. 2014)。

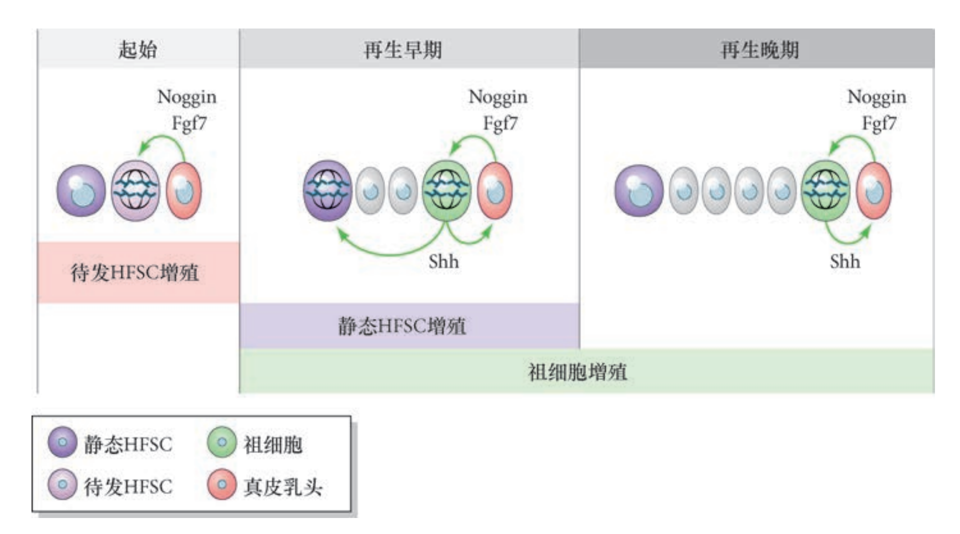


图 16.18 新生的祖细胞在毛囊再生过程中构成协调组织生长的信号中心。待发干细胞（毛囊干细胞）产生祖细胞。静态干细胞只有在祖细胞产生并开始分泌 Sonic hedgehog(Shh) 时才开始分裂。如果祖细胞不能产生 Shh，它们的形成就会减少。Shh 既促进静态干细胞的增殖，也调节促进祖细胞扩增的真皮因子。如果没有来自静态毛囊干细胞的输入，补充下一轮毛发周期的待发毛囊干细胞就会减少。这种减少将延迟再生的过程，并能使毛囊再生失败。Noggin：头蛋白；Fgf7：成纤维细胞生长因子 -7；HFSC：毛囊干细胞（参考 Hsu et al. 2014）。

科学家讲座 16.1 Elaine Fuchs 博士在整体概念上讨论干细胞，且着重讨论毛囊干细胞的显著能力。

这些关于干细胞活化和休眠的发现有助于解释人类的两种变异：男性型秃发和长睫毛。男性型秃发的特征是毛囊大小减小，这似乎是由于毛囊干细胞产生祖细胞的能力逐渐下降而引起的。的确，在年老的哺乳动物中，微环境外部的抑制性化合物能使毛囊干细胞处于静态。这种停止生产祖细胞的状态似乎是由于前列腺素 PGD_2 的持久合成所致，因为 PGD_2 通常在生长期结束时停止毛发的生长。秃发男性具有高水平的 PGD_2，高表达 PGD_2 合成酶的转基因小鼠出现脱发。此外，编码这类前列腺素 (PGD_2) 合成酶的一些基因被睾酮[4]上调 (Garza et al. 2011，2012)，并被 Wnt 途径（参与牙齿再生的相同途径）抑制。上皮细胞分泌的 Wnt 对于成体毛囊的生长和再生是必需的，较老小鼠比年轻小鼠有更高水平的 Wnt 抑制物，如 Dickkopf(Myung et al. 2013；Chen et al. 2014)。在正常情况下，PGD_2 可能抗衡前列腺素 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 的促生长作用。后两种前列腺素似乎通过延长生长期而刺激毛发的生长 (Johnstone and Albert 2002；Sasaki et al. 2005)。的确，含有这些前列腺素或其类似物的溶液已经被批准用于延长睫毛的化妆品。

网络话题 16.5 **人类毛发产生的正常变异** 毛发大小、长度和厚度的图式（或这些图式的缺失）受一些旁分泌和内分泌因子的决定。

结束语

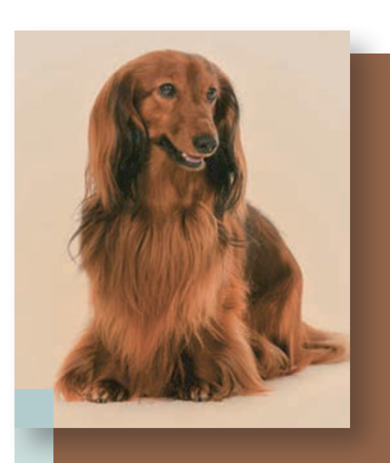
在 1882 年，英国著名的自然主义者之一，也是查理 • 达尔文最热心的支持者之一，托马斯 • 赫胥黎 (Thomas Huxley) 这样表达过自己的心情：“我记得……在连续几个小时内听巴赫赋格曲时拥有的强烈满足感和喜悦。……它给我带来的愉悦就像形态学中的大多数问题完全一样，也就是你在一个最经典的杰作中跟随着主题的无尽变化，它一直在出现并且一直在提醒你多样性的统一。”在表皮基板中，你可以

[4] 睾酮以及（并且更重要，如我们在第 6 章所描述）它的衍生物双氢睾酮对产生男性型秃发有关键的作用。古代文明记载过太监（被阉割的男性）在正常情况下不会出现秃发。睾酮好像对女性头发稀疏没有作用 (Kaufman 2002)。

看到上皮与间充质相互作用这个主题的惊奇变换。基板使用相似的途径和相似的力量来产生不同的器官：羽毛、毛发、鳞片、乳腺和牙齿。表皮和眼使用相似的旁分泌因子及信号途径来确保它们协调的发育和生长。正如赫胥黎自己注意到的那样（见第 717 页），从头开始“发明”的东西很少。正是不同时间内的不同组合才产生了差异。

下一步的研究

毛发通过干细胞再生的能力提供了我们刚开始有所认识的重要一课。的确，再生中的皮肤重新激活了一些正常发育过程中的信号途径。转录因子 Foxc1 似乎对维持毛囊微环境和静态干细胞群体至关重要 (Lay et al. 2016；Wang et al. 2016)。最近的研究还表明，受损的皮肤释放一些双链 RNA，它们能被 Toll 样受体 -3 蛋白 (TLR3) 所感知。除了激活免疫系统的细胞之外，活化的 TLR3 蛋白还激活外胚层发育异常蛋白途径 (见 Nelson et al. 2015)。



开篇图的思考

是什么控制毛发的长度？我们的毛发在我们的头皮上通常长得很长，但是在我们的躯干、四肢、腋窝和阴部却长得很短。一种可能性是成纤维细胞生长因子 -5 基因的局部调控。长毛达克斯猎獾犬与其野生型短毛同胞的差异体现在前者是成纤维细胞生长因子 -5 基因的纯合突变体。这个基因在不同的犬种中有不同的突变（Cadieu et al. 2009；Dierks et al. 2013），成纤维细胞生长因子 -5 基因突变也见于长毛的猫和其他哺乳动物。它参与启动毛发生长周期的退化期，因此它的突变将会使生长期持续更长时间（照片为 Bigandt Photography/Getty Images 版权所有）。



16 要点总结

外胚层基板和表皮

1. 外胚层基板是细胞的增厚，通常出现在外胚层。前部基板形成眼、耳和鼻的感觉神经元，以及眼的晶状体。更后部基板形成毛发、牙齿、羽毛、鳞甲和覆盖表皮的鳞片。
2. 颅基板形成在神经管与表皮之间交界处的外胚层。一些抑制骨形态发生蛋白和 Wnt 的信号将它们与神经嵴细胞区分开来。
3. 颅感觉基板来自一个被分隔成一些独立基板的泛基板场。
4. 脊椎动物的视网膜由脑延伸的视泡形成。Pax6 对眼的形成有重要作用，Sonic hedgehog 在脑中央对 Pax6 的下调将脑的眼形成区域分裂成两半。如果 Shh 不在那里表达，就会产生一个中间的独眼。
5. 视网膜的光感受器细胞聚集光线，将电脉冲传递到视网膜神经节细胞。视网膜神经节细胞的轴突形成视神经。晶状体和角膜形成于表面外胚层。两者都必须变得透明。
6. 相互诱导在视网膜和晶状体的特化及分化中至关重要。形成这两个器官的细胞有两个“生命”。在胚胎期的生命中它们构建器官；在成年期的生命中它们是器官的一部分。身体是由还未发挥

成体作用的细胞所构建的。

7. 表面外胚层的基底层变成皮肤的生发层。表皮干细胞的分裂产生分化的角质形成细胞和更多的干细胞。
8. 釉结是调控牙齿形状和发育的信号中心。
9. 在周期性生长过程中再生毛囊的毛囊干细胞驻留在毛囊的隆突。男性秃发似乎是因为 Wnt 途径受到抑制，阻止了干细胞的分裂。

拓展阅读

Ahn, Y. 2015. Signaling in tooth, hair, and mammary placodes. *Curr. Top. Dev. Biol.* 111: 421–452.

Ahtiainen, L. and 7 others. 2014. Directional cell migration, but not proliferation, drives hair placode morphogenesis. *Dev. Cell* 28: 588–602.

Biggs, L. C. and M. L. Mikkola. 2014. Early inductive events in ectodermal appendage morphogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 26: 11–21.

Hsu, Y. C., L. Li and E. Fuchs. 2014. Emerging interactions between skin stem cells and their niches. *Nature Med.* 20: 847-856.

Jernvall, J., T. Aberg, P. Kettunen, S. Keränen and I. Thesleff. 1998. The life history of an embryonic signaling center: BMP4 induces *p21* and is associated with apoptosis in the mouse tooth enamel knot. *Development* 125: 161–169.

Ogino, H., H. Ochi, H. M. Reza and K. Yasuda. 2012. Transcription factors involved in lens development from the preplacodal ectoderm. *Dev. Biol.* 363: 333–347.

Sick, S., S. Reinker, J. Timmer and T. Schlake. 2006. WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism. *Science* 314: 1447–1450.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 17 章

轴旁中胚层：

体节及其衍生物

何种、何时、何处、有多少？

形体构型的分节是所有脊椎动物种群中一个高度保守的物理特征。通过分节而产生的重复形式为更复杂功能的进化提供了一种发育机制。例如，尽管人和长颈鹿具有相同数目的颈椎骨，但这些分节结构的大小却有巨大差异，并且适应于它们的环境压力。胸椎骨是唯一具有肋骨的分节结构，它们在一定程度上为器官提供保护。胸椎骨的数目在人、小鼠和蛇之间的差别很大。体节的大小和数目，以及它们的骨骼和肌肉衍生物取决于中胚层沿前 - 后轴方向被分割的变化。那么一种组织如何被发育过程切割成如此精确大小的体节？蛇如何形成差不多 300 个体节而人类却只形成 35 个？

原肠胚形成的主要任务之一是在内胚层和外胚层之间形成中胚层。如图 17.1 所示，中胚层组织在脊椎动物胚胎中的形成不是跟随神经管形成之后，而是同步发生。脊索在神经管下部从前脑的后部延伸到尾部。神经管的每一侧都排列有一些厚条带的中胚层细胞，被分成轴旁中胚层、居间中胚层和侧板中胚层。与脊索直接相邻的早期轴旁中胚层没



要点

轴旁中胚层毗邻脊索和神经管。它产生椎骨、骨骼肌及皮肤的许多结缔组织。前部的轴旁中胚层在原肠胚形成期间形成；在后部，它是由尾芽的局限性多能神经中胚层祖细胞形成。轴旁中胚层最初不分节，但随着体轴的延伸，一个从前至后的边界形成波将它有规律和精准地分隔成类似大小的体节。体节发生受控于尾芽的成纤维细胞生长因子 /Wnt 及前部的视黄酸所形成的反向信号梯度，这两个梯度分别维持祖细胞或促进体节分化。周期性振荡的 Notch-Delta 信号为体节发生提供了一个“时钟”，影响同源异形家族基因沿躯干激活的时空共线性。同源异形基因的表达也受表观遗传的调节，它们对正确的轴向特征至关重要。体节的物理边界通过肝配蛋白和肝配蛋白受体 B2 介导的细胞排斥与细胞外基质沉积机制而建立。体节的分化起始于生骨节和生皮肌节的诱导，它们分别形成骨骼和肌肉。来自脊索、神经管、侧板中胚层、表皮外胚层及迁移性神经嵴细胞的信号调控软骨和肌细胞发生。

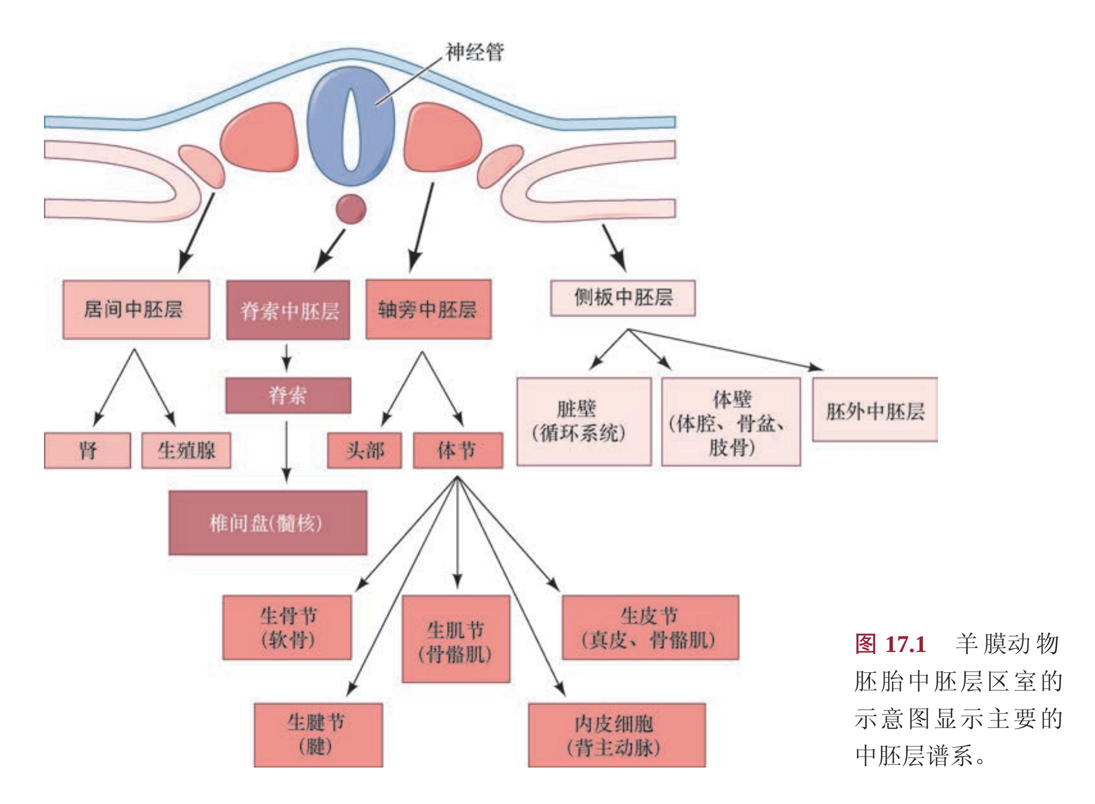


图 17.1 羊膜动物胚胎中胚层区室的示意图显示主要的中胚层谱系。

有体节，呈现出两条连续性间充质细胞的形式，称为**前体节中胚层**（**presomitic mesoderm，PSM**），也被称为**体节板**（**segmental plate**）。在羊膜动物中的大量研究表明，原条退缩和神经褶开始在胚胎中部汇合时，前体节中胚层细胞将形成体节。**体节**（**somite**）是上皮性的"块状"细胞簇，位于紧邻神经管的两侧。

躯干和头部中胚层及其衍生物可以总结如下（见图 17.1）。

1. 躯干部中胚层的中央区域是**脊索中胚层**（**chordamesoderm**），通常称之为中轴中胚层。这个组织形成脊索，是一个过渡性组织，其主要功能是诱导和图式化神经管，以及建立前 - 后体轴。脊索细胞以大的液泡保持静水压，从而为发育中的胚胎提供一个硬性的棒状中轴。虽然有许多脊索细胞被细胞凋亡所清除，但椎间盘之间的胶状核，称之为髓核，却是来自脊索细胞（图 17.2；Choi et al. 2008；McCann et al. 2011）。
2. 脊索的两侧是**轴旁中胚层**（**paraxial mesoderm**）或称为**体节中胚层**（**somitic mesoderm**），这个区域发育形成的组织将在胚胎的背部包围脊髓，还有一些肌细胞的后代将位于肢或腹部（腹壁）区域。在形成这些区域的组织之前，轴旁中胚层首先形成体节，也就是中胚层细胞在神经管两侧形成的过渡性上皮块，它们将形成肌肉和背部的许多结缔组织（真皮、肌肉、骨骼元件如椎骨和肋骨；见图 17.2E，F）。最前端的轴旁中胚层不分节，它变成**头部中胚层**（**head mesoderm**），与神经嵴一起形成面部和颅部的骨骼、肌肉和结缔组织。
3. **居间中胚层**（**intermediate mesoderm**）紧邻轴旁中胚层的侧部，将形成肾、生殖腺及其附属导管组成的泌尿生殖系统。肾上腺的外层（皮质）部分也来自居间中胚层（见图 17.2C）。
4. 最远离脊索的**侧板中胚层**（**lateral plate mesoderm**）形成循环系统的心脏、血管、血细胞，以及体腔的内衬。它也形成骨盆和肢的骨骼（但不包括肢肌肉，其来源是体节中胚层）。侧板中胚层也参与形成一系列向胚胎输送营养的重要胚外膜（见图 17.2B，C）。
5. 躯干中胚层的前部是头部中胚层，由不分节的轴旁中胚层和索前中胚层组成。这个区域提供头部间充质，形成头部的许多结缔组织和肌肉组织（Evans and Noden 2006）。来自头部中胚层的肌肉与体节所产生的肌肉的形成过程不同。它们不仅表达各自的一组转录因子，而且受不同类型的肌肉萎缩症影响（Emery 2002；Bothe and Dietrich 2006；Harel et al. 2009）。

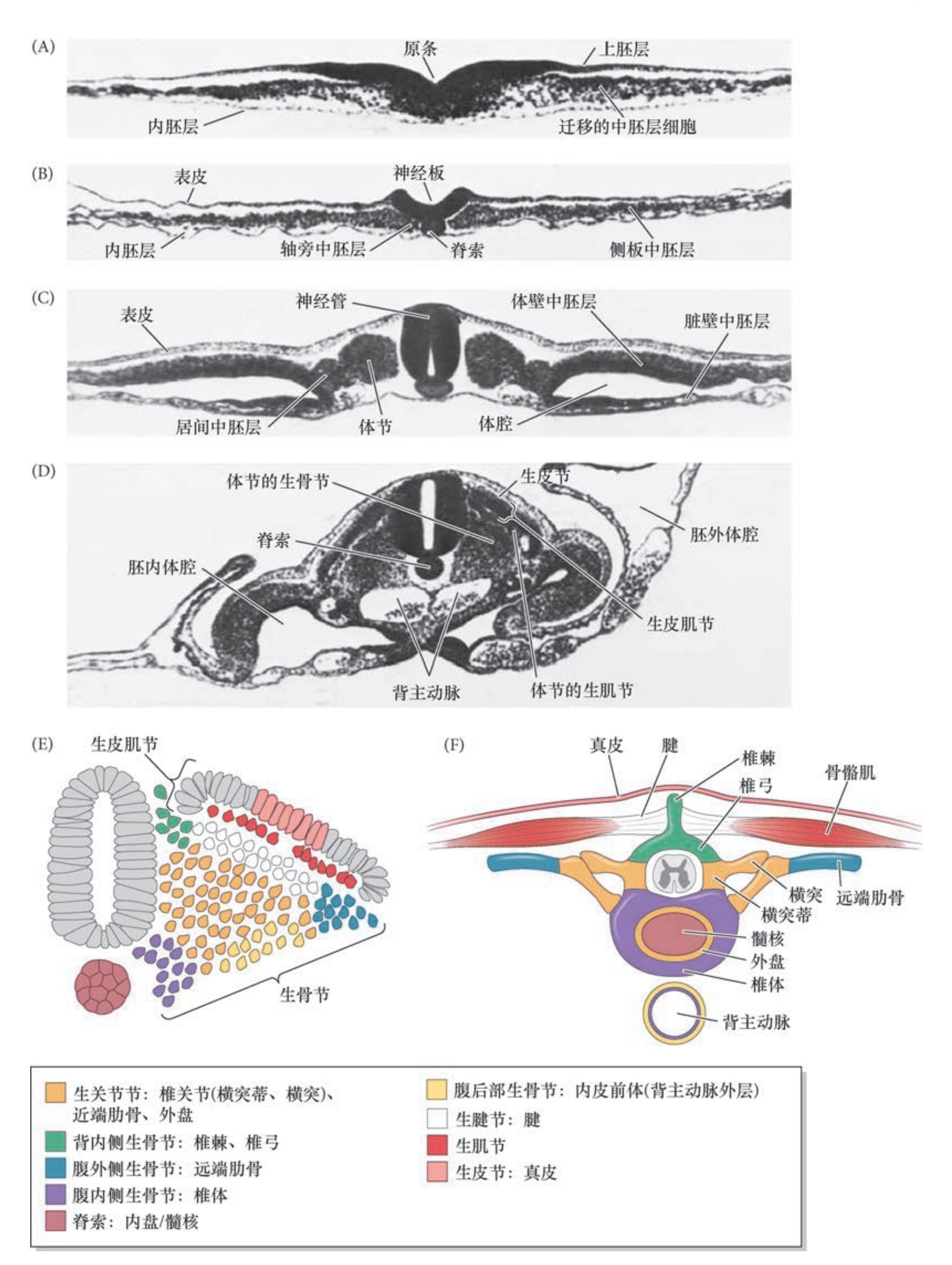


图 17.2　鸡胚胎的原肠胚和神经胚形成，重点关注中胚层成分。(A) 原条区域，显示正在迁移的中胚层和内胚层前体。(B) 脊索和轴旁中胚层的形成。(C，D) 体节、体腔和两个背主动脉（最终将融合）的分化。(A ~ C) 24 h 的胚胎。(D) 48 h 的胚胎。(E，F) 48 h 的胚胎横切面一侧的体节彩码示意图 (E)，以及这些体节细胞在成体形成的衍生结构 (F) (E 图和 F 图改编自 Lawson and Harfe 2015；Scaal 2015)。

17.1　体节的细胞类型

一个体节在刚形成时，上皮细胞之间的接触使它变成一个具有中央间充质细胞的块状细胞团。体节内的细胞向特定细胞命运的定型发生得相对较晚，起始于体节已经形成之后。当一个体节刚从前体节中

胚层分离时，它的所有细胞都能变成任何体节衍生结构。随着体节的成熟，一部分细胞经历上皮到间充质转换，不同的区域被定型，只能形成某些细胞类型（见图 17.2A ～ D）。这些成熟的体节主要包含两部分：生骨节和生皮肌节（见图 17.2D，E）。生骨节由体节腹内侧的细胞形成（最靠近脊索和神经管的那些细胞），它们在这个位置进行有丝分裂，失去圆形的上皮特征，重新转变为间充质细胞。生皮肌节由体节的其他上皮部分形成，这些细胞产生形成肌肉的生肌节和形成真皮的生皮节（见图 17.2E，F）。

生骨节（**sclerotome**）形成椎骨及其附属的腱和肋软骨（见图 17.2E），它可以被进一步细分为一些形成特定细胞谱系的祖细胞区域。源自生骨节最背侧细胞的**生腱节**（**syndetome**）产生腱，而生骨节最内部的细胞，有时称为**生关节节**（**arthrotome**），形成椎关节、椎间盘外侧部分及肋骨的近端部分（Mittapalli et al. 2005；Christ et al. 2007），最外侧的间充质细胞构建肋骨的最远端部分。位于生骨节腹内侧的细胞将迁移到脊索并形成椎体，而来自生关节节的另外一些细胞将与脊索细胞一起形成椎间盘。生骨节最背内侧的细胞将形成椎骨的椎棘和椎弓。最后，位于生骨节腹后部[1]的一组尚未命名的内皮前体细胞形成背主动脉和椎间血管的分化血管细胞（表 17.1；Pardanaud et al. 1996；Sato et al.2008；Ohata et al. 2009）。

生皮肌节（**dermomyotome**）含有形成背部骨骼肌和真皮的祖细胞（见图 7.2E）。生皮肌节的最腹部区域被分割成**生肌节**（**myotome**），它将形成背部的肌肉、胸骨和腹部体壁。从生皮肌节侧缘脱离的细胞组成另外一些肌祖细胞，它们迁移到肢以形成前肢和后肢的肌肉。生皮肌节的最背部表面发育成**生皮节**（**dermatome**），产生背部的真皮。

表 17.1 体节的衍生物

传统观点	目前观点
生皮肌节	
生肌节形成骨骼肌	侧缘产生形成肌肉的初级生肌节
生皮节形成背部真皮	中央区域形成肌肉、肌肉干细胞、真皮、棕色脂肪细胞
生骨节	
形成椎软骨和肋软骨	形成椎软骨和肋软骨
	背部区域形成腱（生腱节）
	内侧区域形成血管和脑脊膜
	中央间充质区域形成关节（生关节节）
	形成背主动脉的平滑肌细胞

袖珍指南

对于所有脊椎动物，中胚层在神经胚期的组织化都是相似的。你可以在 DevBio 网站 Chick-Mid 这一部分通过观察鸡胚胎的连续切片来了解这种组织化。

因此，体节含有一个局限性多能细胞群体，这些细胞的特化与它们所处的体节位置相关（也受这个位置决定）。那么它们的位置如何影响它们的分化？考虑一下体节内邻近每个祖细胞区域的结构。它们如何影响生骨节和生皮肌节细胞的发育？脊索和神经管位于中轴，两侧是其他中胚层衍生物，在它们之上是表皮。我们在本章后面将讨论这些周围组织的旁分泌信号如何图式化体节的细胞命运。但是，我们首先需要了解轴旁中胚层和体节如何被特化。

17.2 沿前 - 后轴建立轴旁中胚层和细胞命运

17.2.1 轴旁中胚层的特化

中胚层的亚型（脊索中胚层、轴旁中胚层、居间中胚层、侧板中胚层）沿中侧轴（中心到侧部）受

[1] 在本章的后面我们将讨论体节怎样沿前 - 后轴发生极化。另外，如第 16 章所述，一些细胞偏向仅与体节的一半相互作用。在这种情况下，内皮细胞前体只从体节后部迁移出来。

到剂量逐渐增高的骨形态发生蛋白的特化（**图 17.3A**；Pourquié et al. 1996；Tonegawa et al. 1997）。鸡胚胎的更侧部中胚层比中线区域表达更高水平的骨形态发生蛋白 -4，改变骨形态发生蛋白的表达能改变中胚层组织的特征。形成骨形态发生蛋白浓度梯度的一个机制是头蛋白，这是一个最初在脊索，然后在体节中胚层表达的骨形态发生蛋白抑制物（Tonegawa and Takahashi 1998）。如果将表达头蛋白的细胞置于预定侧板中胚层，侧板组织就会被重新特化为形成体节的轴旁中胚层（**图 17.3B**；Tonegawa and Takahashi 1998；Gerhart et al. 2011）。

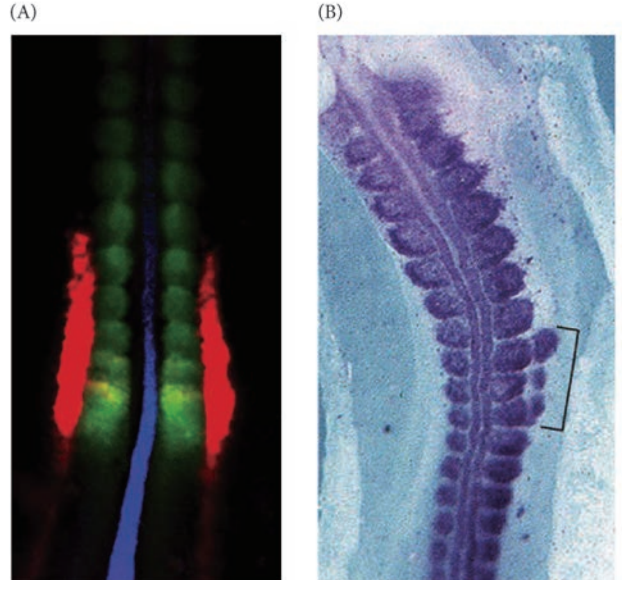


图 17.3 （A）在一个 12 体节期（约 33 h）的鸡胚胎躯干区域染色内侧中胚层区室。原位杂交使用的探针分别结合脊索中 Chordin 的 mRNA（蓝色）、体节中 Paraxis 的 mRNA（绿色），以及居间中胚层中 Pax2 的 mRNA（红色）。（B）体节的特化。将分泌头蛋白的细胞置于鸡胚胎的未来侧板中胚层区域使这个中胚层被重新特化为形成体节的轴旁中胚层。用 *Pax3* 探针进行的原位杂交显示出被诱导产生的体节（方括号）（A 图来自 Denkers et al. 2004，由 T. J. Mauch 提供；B 图来自 Tonegawa and Takahashi 1998，由 Y. Takahashi 提供）。

尽管在不同物种之间存在一些差异，不同浓度的骨形态发生蛋白似乎能引起叉头框（Fox）家族转录因子的差异性表达，*Foxf1* 在将要形成侧板中胚层的区域转录，*Foxc1* 和 *Foxc2* 在将要形成体节的区域转录（Wilm et al. 2004）。在小鼠中，缺失 *Foxc1* 和 *Foxc2* 会导致轴旁中胚层被重新特化为居间中胚层。

其他一些转录调节物对前体节中胚层的早期特化有保守的作用，特别是 Brachyury（T）、Tbx6 和 mesogenin（Van Eeden et al. 1998；Nikaido et al. 2002；Windner et al. 2012）。在斑马鱼中，前体节中胚层的发育需要 *Tbx6* 和 *Tbx16*（*spadetail*）基因；但是在小鼠中，*Tbx6* 似乎行使这两个基因的功能。在 *Tbx6* 被敲除的小鼠中，预定前体节中胚层细胞被转变成神经组织。这些小鼠的前体节中胚层表达神经祖细胞决定因子的基因 *Sox2*（另外还有其他神经基因），更为显著的是，这在前体节中胚层的位置形成了异位的神经管（Chapman and Papaioannou 1998；Takemoto et al. 2011；Nowotschin et al. 2012），这些胚胎实际上形成了三个神经管（**图 17.4**）！这说明 Tbx6 在正常情况下促进前体节中胚层形成，其中一部分原因是它抑制 *Sox2* 基因的表达和神经命运。

Tbx6 并不是唯一的前体节中胚层决定因子。另一个转录因子（mesogenin1）作用于 *Tbx6* 的上游，可能对前体节中胚层的命运行使一种“主调节物”的功能（Yabe and Takada 2012；Chalamalasetty et al. 2014）。小鼠 *mesogenin1* 基因的功能获得和功缺失研究证明，它对 *Tbx6* 在前体节中胚层细胞的表达既是充分的也是必要的（**图 17.5**）。

概括起来，从这些发现中可以推断胚胎的后部区域保留有一个双潜能的干细胞群体，这些细胞所维持的高度可塑性对产生从中胚层到外胚层的细胞谱系是必需的（见 Kimelman and Martin 2012；Neijts et al. 2014；Beck 2015；Henrique et al. 2015；Carron and Shi 2016 综述）。虽然我们已经鉴别出这些干细胞的转录调节物，但有哪些信号系统从这个**尾部祖细胞区**（**caudal progenitor zone**）诱导细胞类型的成熟？

沿轴旁中胚层的前 - 后轴呈现出一些反向的形态发生素。具体来说，成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt3a 在脊椎动物的尾芽高度表达，而体节和神经板产生一个前部的视黄酸浓度梯度。视黄酸直接抑制

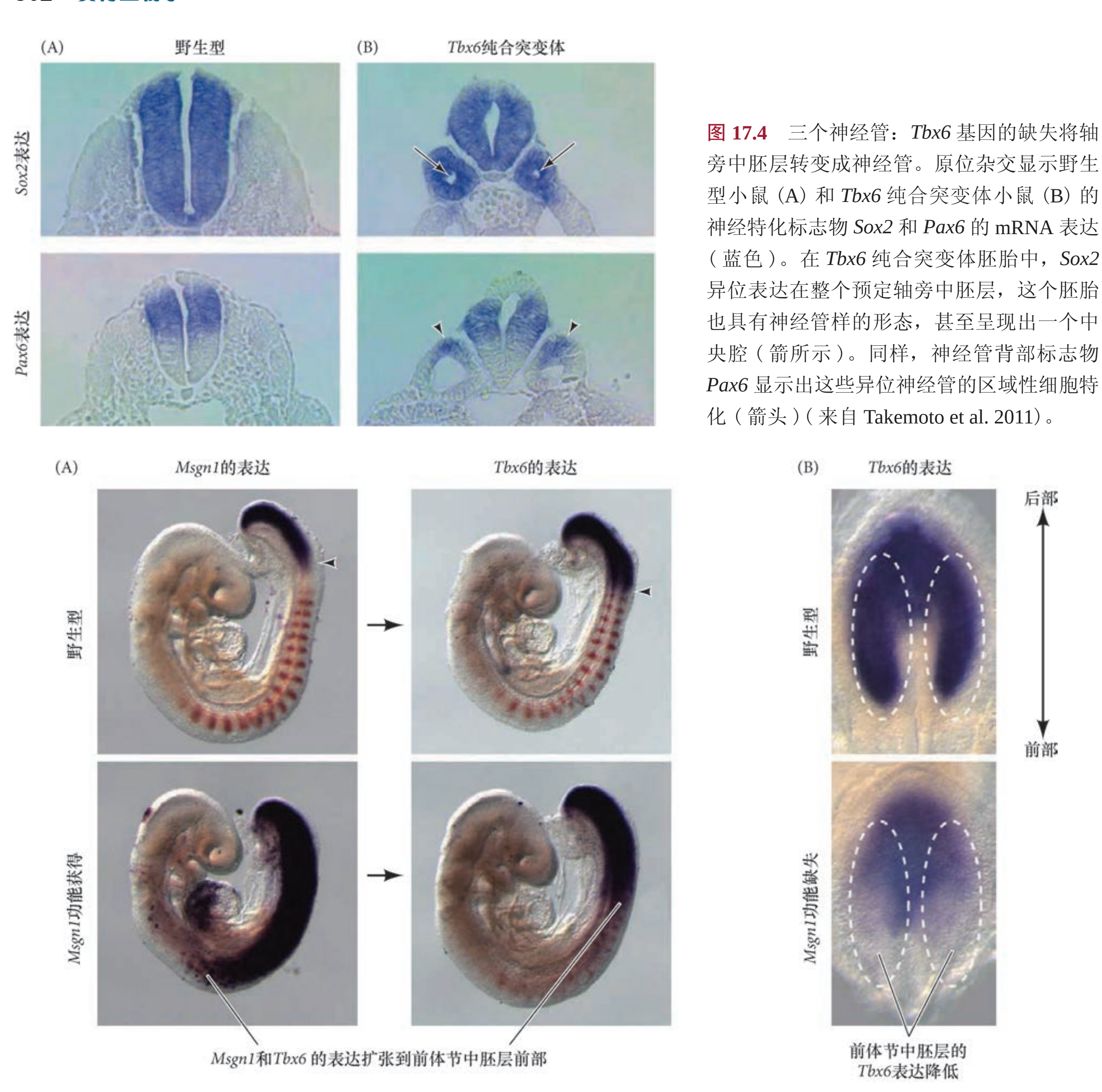


图 17.4 三个神经管：*Tbx6* 基因的缺失将轴旁中胚层转变成神经管。原位杂交显示野生型小鼠（A）和 *Tbx6* 纯合突变体小鼠（B）的神经特化标志物 *Sox2* 和 *Pax6* 的 mRNA 表达（蓝色）。在 *Tbx6* 纯合突变体胚胎中，*Sox2* 异位表达在整个预定轴旁中胚层，这个胚胎也具有神经管样的形态，甚至呈现出一个中央腔（箭所示）。同样，神经管背部标志物 *Pax6* 显示出这些异位神经管的区域性细胞特化（箭头）（来自 Takemoto et al. 2011）。

图 17.5 Mesogenin1（Msgn1）对 Tbx6 的表达既是充分的也是必要的。（A）*Msgn1* 的功能获得。如原位杂交所示，前体节中胚层中 *Msgn1* 的错误表达（下排两张照片）扩张到整个躯干部（左图），这导致 *Tbx6* 表达的扩张（右图）。（B）相反，*Msgn1* 的功能缺失导致 *Tbx6* 的表达减少（蓝色，虚线圈出的区域）。A 图为侧面观；B 图为背面观（根据 Chalamalasetty et al. 2014；照片由 Terry Yamaguchi 和 Ravi Chalamalasetty 提供）

成纤维细胞生长因子 -8 和 *Tbx6* 的表达，这足以通过上调 *Sox2* 而促进神经细胞命运的成熟（**图 17.6A**；Kumar and Duester 2014；Cunningham et al. 2015；Garriock et al. 2015）。重要的是，成纤维细胞生长因子 -8 激活 Cyp26b，这是视黄酸合成的一个直接抑制物，能促进中胚层细胞命运的发育（**图 17.6B**）。因此，这些对立和拮抗的形态发生素之间的信号平衡图式化细胞的迁移、增殖和分化，使它们向正确的神经和中胚层命运发育（Cunningham and Duester 2015；Henrique et al. 2015）。然而，这个模型还必须能够引起前 - 后轴方向不同体节特征的发育。

17.2.2 同源异形基因的时空共线性沿躯干决定体节特征

所有的体节可能都彼此相似，但它们沿头 - 尾（前 - 后）轴形成不同的结构。例如，形成颈部颈椎骨

和腹部腰椎骨的体节不能形成肋骨；只有形成胸椎骨的体节才能形成肋骨，并且胸椎骨的这种特化出现在发育的很早期。前体节中胚层的不同区域根据它们的前 - 后轴位置在体节发生之前被决定。如果将鸡胚胎胸部区域的前体节中胚层移植到更早期胚胎的颈部，宿主胚胎将会在颈部具有移植物的一侧发育出肋骨（图 17.7A；Kieny et al. 1972；Nowicki and Burke 2000）。

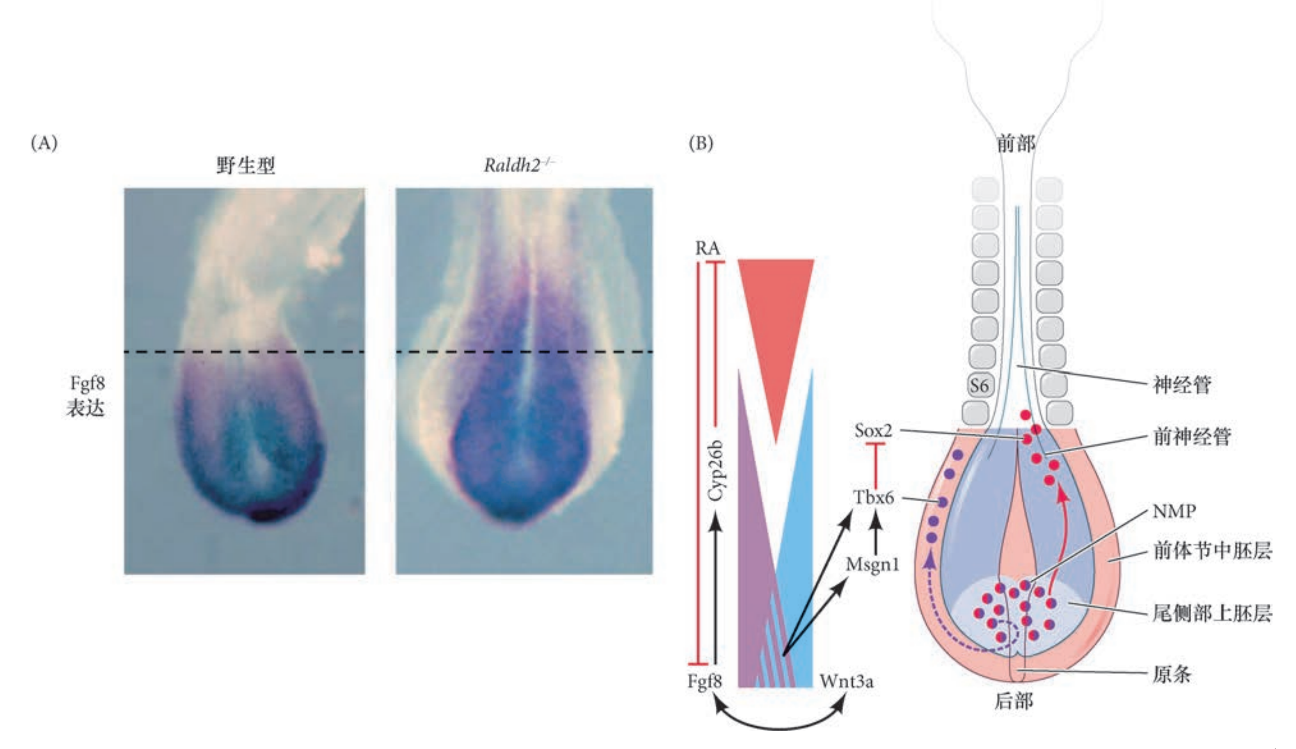


图 17.6　轴旁中胚层发育过程中拮抗信号沿前 - 后轴图式化神经中胚层祖细胞。(A) 在视黄醛脱氢酶纯合突变体 (*Raldh2*$^{-/-}$) 的小鼠中，视黄酸 (RA) 合成的缺失导致成纤维细胞生长因子 -8 (Fgf8) 的表达向前扩张（蓝色染色越过了虚线）。(B) 调节神经中胚层祖细胞 (NMP) 从尾部祖细胞区域（尾侧部上胚层）进入前神经管或前体节中胚层的信号系统的模型。后部的成纤维细胞生长因子和 Wnt 信号拮抗前部的视黄酸信号。成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt3a 上调 Mesogenin1 (Msgn1) 和 Tbx6 的表达，以促进前体节祖细胞的特化和抑制神经细胞命运的特化 (Sox2) (A 图来自 Cunningham et al. 2015；B 图参考 Henrique et al. 2015)。

体节在前 - 后轴方向的特化受同源异形基因决定（见第 12 章）。同源异形基因的表达以共线性的方式在空间上呈现出来。因此，位于同源异形基因簇 3′ 端的基因在轴旁中胚层的更前端表达；反之，更靠近 5′ 端的同源异形基因在胚胎的更后端表达（见图 12.23；Wellik and Capecchi 2003）。如果改变同源异形基因的表达图式，中胚层的特化也会随之变化。例如，如果 *Hoxa10* 在整个前体节中胚层异位表达，由于腰椎骨取代了胸椎骨，肋骨就会完全丢失（图 17.7B）。但是，如果 *Hoxb6* 在所有前体节中胚层中错误表达，所有的椎骨都形成肋骨（图 17.7C；Carapuço et al. 2005；Guerreiro et al. 2013）。这两种情况下，椎骨特征的这些转变都受同源异形基因在前体节中胚层而不是体节的异位表达所诱导，说明前体节中胚层细胞接收来自中轴水平的特化信息的指令，这些指令进而在后来的体节分化中得以实施。对于鸡胚胎，同源异形基因的表达在细胞经原条进行迁移之前仍具有可变性；但是，一旦轴旁中胚层细胞确定了它在前体节中胚层的位置，同源异形基因的表达就变得更为固定。的确，一旦建立起来，每个体节都将保持各自的同源异形基因表达图式，即便是这个体节被移植到胚胎的另一个区域 (Nowicki and Burke 2000；Iimura and Pourquié 2006；McGrew 2008)。

同源异形基因的**时间共线性** (**temporal collinearity**) 是同源异形基因激活的时间调控机制，使胚胎沿前 - 后轴方向建立同源异形基因表达的空间共线性，其结果是这种表达对应于同源异形基因沿 3′ 端到 5′

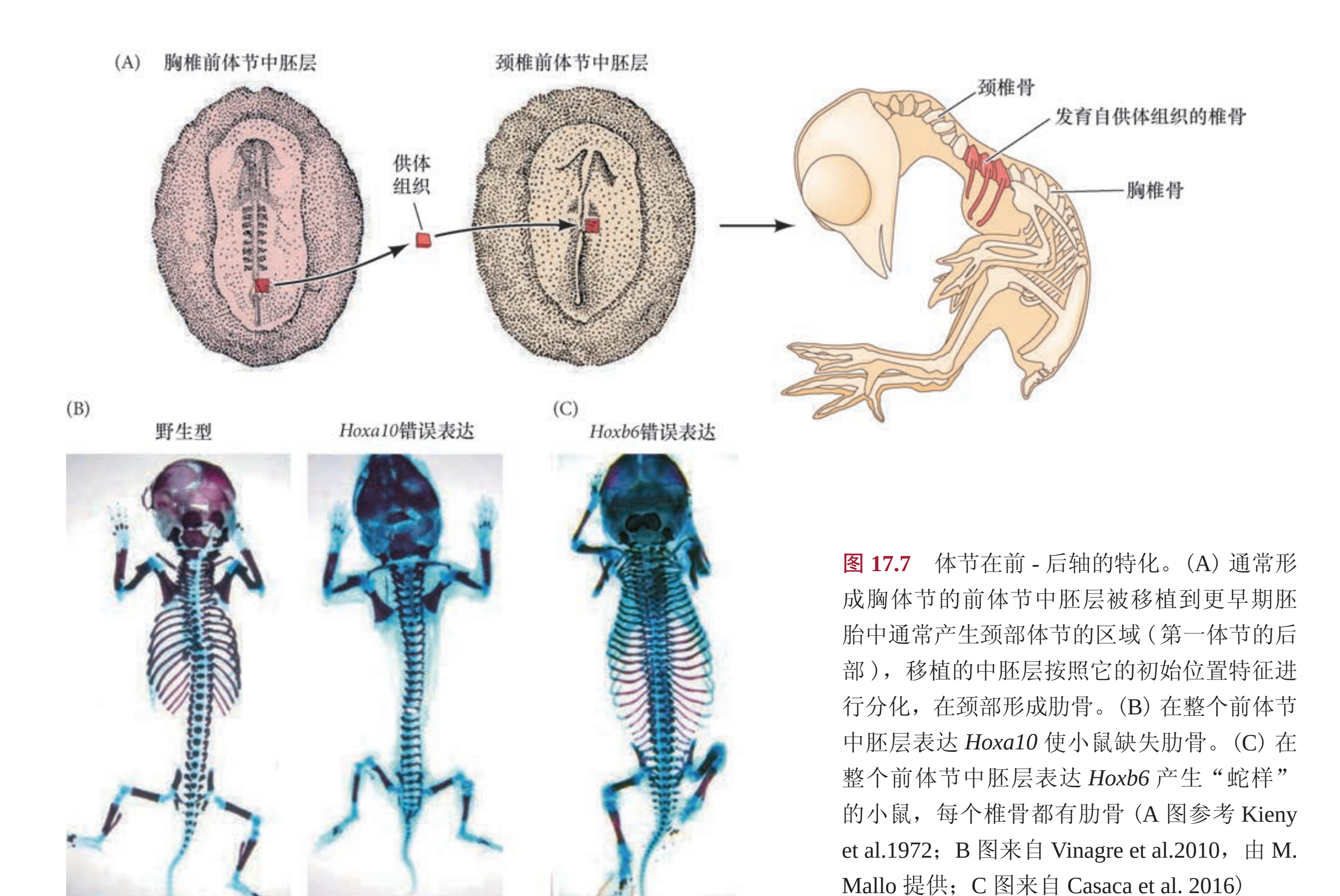


图 17.7 体节在前 - 后轴的特化。(A) 通常形成胸体节的前体节中胚层被移植到更早期胚胎中通常产生颈部体节的区域（第一体节的后部），移植的中胚层按照它的初始位置特征进行分化，在颈部形成肋骨。(B) 在整个前体节中胚层表达 *Hoxa10* 使小鼠缺失肋骨。(C) 在整个前体节中胚层表达 *Hoxb6* 产生“蛇样”的小鼠，每个椎骨都有肋骨（A 图参考 Kieny et al.1972；B 图来自 Vinagre et al.2010，由 M. Mallo 提供；C 图来自 Casaca et al. 2016）

端方向的基因组排列。换句话说，早期转录的同源异形基因既表达在胚胎更前部的细胞，也处在更 3′ 端的染色体位置。事实上，同源异形基因从 3′ 端到 5′ 端的激活与细胞内移 / 迁移进入轴旁中胚层的时间呈现出动态时序性配合，这样就沿躯干建立了同源异形基因表达的空间图式（图 17.8A；Izpisúa-Belmonte et al. 1991）。最初，一个渐进带模型认为同源异形基因从 3′ 端到 5′ 端的逐渐激活分别发生在早期到晚期的前体节中胚层细胞（Kondo and Duboule 1999；Kmita and Duboule 2003）。然而，新近的研究更倾向于同源异形基因控制原条位置上细胞内移的时间这个模型；因此，表达前端同源异形基因的细胞较早内移，而表达更靠后端同源异形基因的细胞较晚内移（Iimura and Pourquié 2006；Denans et al. 2015）。在轴旁中胚层的发育过程中，由于新的祖细胞从尾部祖细胞区进入前体节中胚层并随着时间的推移顺序地处在更后部的位置，体轴也不断延伸。因此，更前端的前体节中胚层细胞将表达更 3′ 端的同源异形基因，而在后来并入的前体节中胚层细胞将位于后部并表达更 5′ 端的同源异形旁系同源物，这样就沿头 - 尾轴建立了体节的最终特征（见图

拓展性问题

Morgan（1915）和 Lewis（1978）对果蝇同源异形基因的最初研究已是很久以前的事了，人们可能会认为现在我们理解了所有关于同源异形基因的问题，但是关于同源异形基因调控机制的各种问题依然存在。你刚刚了解到，同源异形基因簇的染色质状态在整个轴旁中胚层的发育进程中有一个从 3′ 端到 5′ 端的逐渐松散过程。最初是什么触发了 3′ 端同源异形基因染色质这种早期表观遗传修饰？一旦启动，穿过基因簇的逐渐转换是自主发生的，还是需要另外的调节物来驱动这种向基因簇 5′ 端的过渡？最后，是什么机制在一个特定的体节内稳定特异表观遗传修饰的继承？如你所看到的那样，很多问题仍然存在！

17.8A；Casaca et al. 2014 综述）。

同源异形基因的这种时序性激活被称为同源异形基因钟（Duboule and Morata 1994）。那么这种同源异形基因的线性激活在细胞水平上是如何进行的？有研究表明，同源异形基因从一个紧密包装状态变成一个解包装结构[2]的时序与它们在前体节中胚层的表达时序相一致：首先是 3′ 端同源异形基因（*Hoxd4*）显示出解包装的迹象，接着是 *Hoxd8-9* 基因簇，然后是 *Hoxd10*，最后是更 5′ 端的 *Hoxd11-12*（图 17.8B；Montavon and Duboule 2013；Noordermeer et al. 2014）。而且，一旦一个细胞在前体节中胚层中确定了自身的位置，它似乎也为同源异形基因确定了特定的染色质状态，而且它的所有子细胞也对这个状态保留一个固定的记忆。

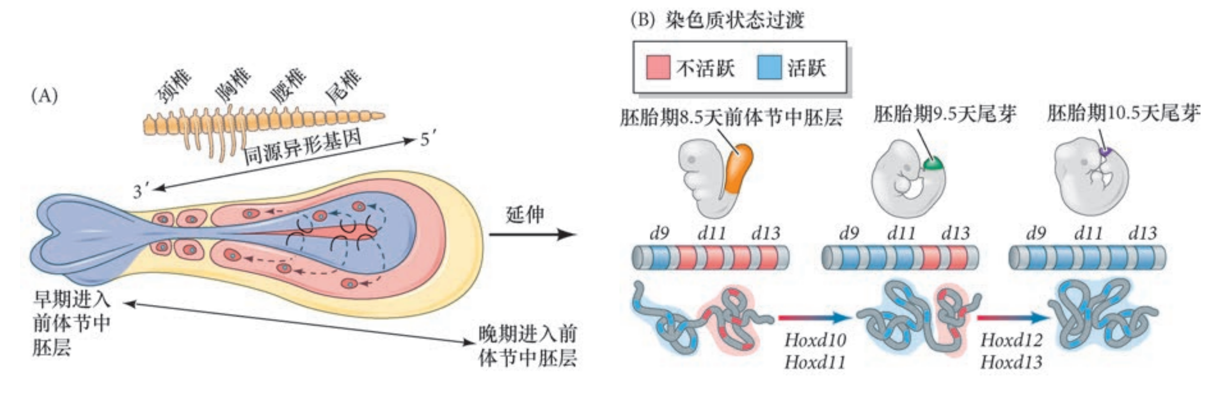


图 17.8 同源异形基因在前体节中胚层表达的时空共线性与染色质重塑相关。(A) 示意图显示随着尾芽的伸长，细胞相继迁移到前体节中胚层，这与更 5′ 端同源异形基因逐次表达的起始和不同椎骨特征的发育相关联。(B) 在前体节中胚层的延伸进程中，染色质结构的变化使得差异性同源异形基因表达的可及性逐渐发生。着色的前体节中胚层和尾芽表示这些组织在不同的胚胎时期（胚胎第 8.5 天到胚胎第 10.5 天）被用于分析 *Hoxd* 的染色质结构（B 图参考 Noordermeer et al. 2014）。

17.3 体节发生

体节板如何以大小恰当和两侧对称的方式被分隔成正确数目的体节？随着前体节中胚层间充质细胞的成熟，它们组织成细胞“螺纹”（Meier 1979），构成体节的前体，有时也被称为**体节球**（**somitomere**）。这些体节前体发生组织结构的改变，使外层细胞黏附在一起形成一个上皮，而内部细胞仍然保持间充质特性。第一对体节在紧邻听泡区域后部的位置形成，新体节以固定的间隔从前体节中胚层的喙端“萌发”出来（图 17.9）。体节的形成被称为**体节发生**（**somitogenesis**），这个过程涉及前体节中胚层的间充质细胞周期性地产生一个上皮裂缝。这些从内向外的分隔在下一个前部体节的后半部分与前体节中胚层的最前端之间建立一个上皮性边界。因此，整个体节的前后边界不是同时形成的，而是以规律性的间隔一次形成一个边界。当一个新的边界形成时，它就形成了一个体节的后半部分（从而产生一个完全形成的体节），也建立了下一个将要形成的体节的前半部分。

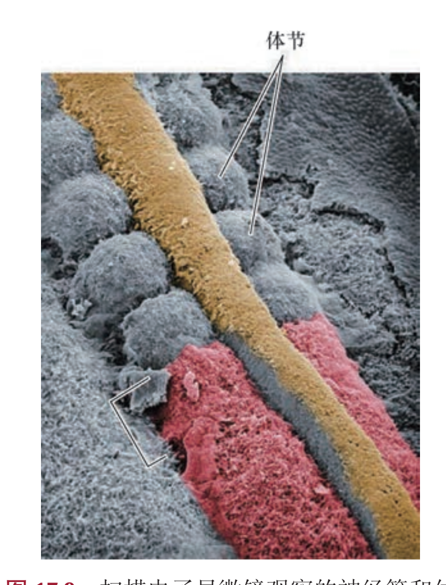


图 17.9 扫描电子显微镜观察的神经管和体节。将表面外胚层剥离后，已经形成的体节和尚未被分隔成明显体节的轴旁中胚层（右下）就被显示出来。在左下方可见轴旁中胚层正在变圆，形成体节球（括号内区域），神经嵴细胞正从神经管顶部向腹侧迁移（由 K. W. Tosney 提供）。

为了准确地描述已经形成的体节及体节球在前体节板中的

[2] 如何检测染色质状态？Duboule 的实验室使用一种称为环形染色体构象捕获（或 4C-seq）的新技术来观察同源异形基因簇的三维基因组排列，并鉴定哪些同源异形基因在轴旁中胚层发育过程中处于紧密包装或疏松包装的染色质状态。

位置，人们采用了一种使用罗马数字的编号方案（Pourquié and Tam 2001）。最新形成的体节的位置始终是I，每次增加的体节被向上编号，即II、III、IV等。向后移动到尚未形成体节的区域，未来体节的位置被向下编号为0、-I、-II、-III等。体节球0（零）与体节I共享一个边界，并且总是下一个将要形成的体节。

因为任何一个物种的单个胚胎之间会以稍微不同的速度发育（如鸡胚胎在略为不同的温度下孵育时），已经形成的体节数目通常是发育进程的最佳指标。成年个体的体节数目具有物种特异性，鸡大约有50对体节，小鼠有65对（其中很多在尾部），斑马鱼有33对，人类通常有38～45对（Muller and O'Rahilly 1986），有些蛇有多达500对体节！

发育辅导课 体节形成 **Michael Barresi 博士逐步介绍体节发生，从分节的建立到体节的分化。**

17.3.1 体轴延伸：尾部祖细胞区和组织间的力量

与大多数其他脊椎动物相比，蛇的前后体轴显然远长于其他轴，因此，影响体节发生的一个重要因素可能是体轴延伸的过程。我们在前面曾提到构成前体节中胚层细胞的来源，在原肠胚形成过程中，这些细胞在羊膜类通过原条内移或在鱼类和两栖类通过向中线集中而产生前部轴旁中胚层细胞。但是，如我们在本章前面讨论的那样，尾部的最后部区域含有一个局限性多能祖细胞群体，既有形成神经管（表达*Sox2*）也有形成轴旁中胚层（表达*Tbx6*）的潜能，所以这些细胞被称为**神经中胚层祖细胞**（**neuromesoderm progenitor**）或NMP（Tzouanacou et al. 2009）。新生的轴旁中胚层细胞从这个储备中释放出来，定位在前体节中胚层棒的尾端。

从尾部祖细胞区驱动体轴延伸的三种最重要因素是细胞增殖、细胞迁移[3]和组织间黏附，尽管这些机制在不同物种之间略有不同。为了例证这三种机制的贡献，我们将在斑马鱼的尾芽中检测它们的作用。斑马鱼的尾芽可以被分成反映不同细胞行为的四个区域：背内侧区、祖细胞区、成熟区，以及新生前体节中胚层所处的区域（**图17.10A**）。使用核定位的报道基因，尾芽中细胞的定向运动已经被予以示踪（Lawton et al. 2013）。这个研究表明，双潜能的**神经中胚层**（**neuromesoderm**）干细胞驻留在背内侧区（见图17.10A），正好位于尾芽的神经管，以及中轴和轴旁中胚层的背部（Martin and Kimelman 2012）。这些神经中胚层祖细胞首先通过**集体迁移**[4]（**collective migration**）迅速向后运动到祖细胞区（尾芽末端；见图17.10A）。在祖细胞区，由于"凝聚性"降低及相随的细胞混合，细胞的速度开始减慢。这项研究的作者恰当地将这种效应与交通流量作比较。都在同一个方向上行驶的车辆可以达到很高的速度，但是当车辆改变方向、转进和转出车道、甚至是完全转向，将引起后面车辆速度的急剧下降。在神经中胚层祖细胞的运动中，这种群体行为的改变被认为既可能使这些细胞改变运动方向，也能使它们开始同步其发育轨迹。这些祖细胞向前转向，以便从双侧迁移进入最后部中轴中胚层两侧的成熟区，最终进入前体节中胚层区域（见图17.10A）。

当神经中胚层祖细胞迁移通过成熟区时，正如成熟所暗示的那样，它们开始表达中胚层标记物（*Msgn1*和*Tbx6*基因）。但是，这些细胞也短暂地表达Cdc25a，这使它们在进入前体节中胚层和分化之前进行一次细胞分裂（见观察发育17.1；Bouldin et al. 2014）。至少在斑马鱼的尾芽中，虽然细胞一直在增殖，但细胞迁移似乎对体轴延伸的贡献更重要（McMillen and Holley 2015综述）。

观察发育17.1 观察体节发生期间斑马鱼尾芽成熟区中分裂的神经中胚层祖细胞。

[3] 在羊膜动物中，尾部祖细胞区的细胞迁移被更多地解释为组织变形的结果而不是单个细胞的迁移（见Bénazéraf et al. 2010；Bénazéraf and Pourquié 2013）。

[4] 集体迁移是自身驱动的迁移细胞彼此施加定向的协调力，而不是松散接触的单个迁移细胞，或由于增殖或嵌插而受组织推动的一组细胞的运动。其他细胞，如神经嵴和转移中的癌细胞，被认为使用集体迁移。

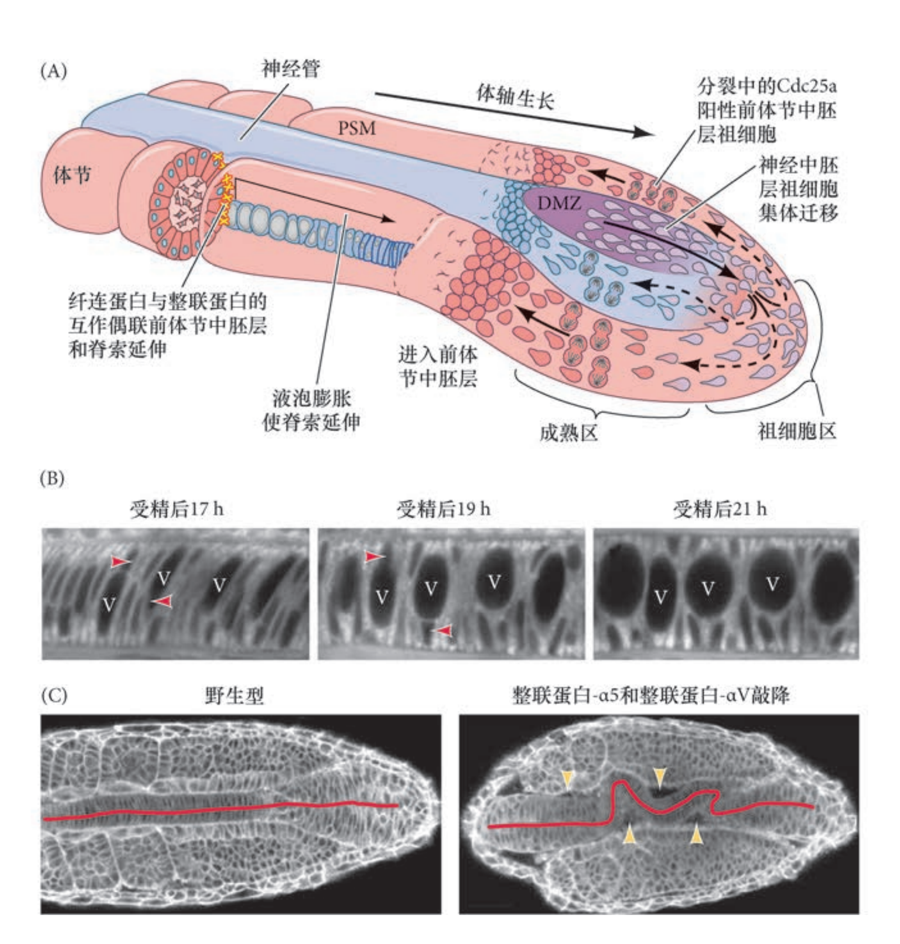
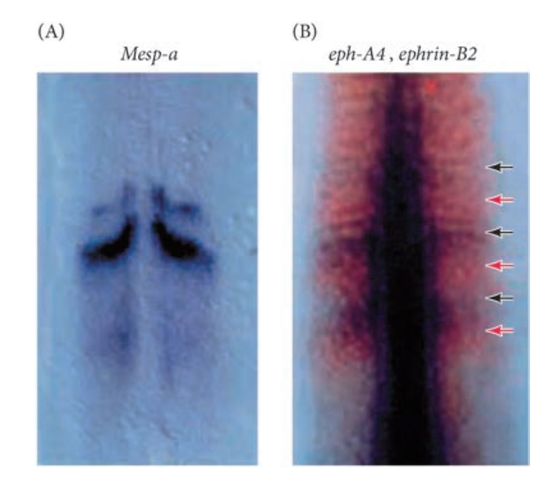


图 17.10　体轴延伸的一个模型：脊索液泡膨胀、细胞外基质沉积及一个活跃的尾部祖细胞区共同在斑马鱼中驱动体轴的延伸。(A) 背内侧区 (DMZ) 的双潜能神经中胚层祖细胞集体迁移至祖细胞区，它们在那里或向神经谱系分离并进入神经管，或从两侧迁移至成熟区并进入前体节中胚层。祖细胞在成熟区短暂表达 Cdc25a 以引发一轮细胞分裂。脊索中胚层细胞使液泡膨胀，对周围组织施加压力，导致脊索向后延伸。纤连蛋白与整联蛋白之间的相互作用将前体节中胚层 (PSM) 与脊索联结，使前体节中胚层在脊索延伸过程中被拉向后部。这三个过程，即细胞迁移、细胞分裂及前体节中胚层与脊索耦合的组织位移，共同驱动体轴的延伸。(B) 斑马鱼胚胎中脊索细胞的高倍放大，显示液泡随着时间推移的填充，这个过程参与脊索延伸（红色箭头指示细胞核）。(C) 用反义寡核苷酸将整联蛋白 -α5 和整联蛋白 -αV 进行双敲减后阻止脊索细胞与细胞外基质的黏附，结果是脊索在试图延伸时发生弯曲（红线和箭头）。(B 图来自 Ellis et al. 2013；C 图来自 Dray et al. 2013)。

除了细胞迁移和增殖之外，组织间的黏附力也有助于前 - 后轴的延伸。轴旁中胚层和相邻的脊索是行使这些功能的主要组织。随着成熟中的神经中胚层祖细胞迁移至前体节中胚层，纤连蛋白基质逐渐沉积在前体节中胚层的表面及轴旁中胚层（体节和前体节中胚层）与脊索之间的界面（见图 17.10A）。在体轴延伸期间，脊索中胚层细胞发生显著的细胞变化，导致脊索变硬和定向延伸 (Ellis et al. 2013a)。具体来说，脊索中胚层细胞利用内含体的转运以膨胀一些大的液泡，这使细胞变大而对周围组织施加压力（**图 17.10B**）。脊索中胚层细胞还分泌一个细胞外基质鞘（胶原蛋白、层粘连蛋白），环围脊索和抵御细胞内部压力的扩张。由于这种构造的存在和脊索中胚层的不断膨胀，脊索向阻力最小的尾部方向延伸（见图 17.10A；Ellis et al. 2013b）。至少在斑马鱼中，轴旁中胚层主要是在脊索上“搭便车”，利用纤连蛋白基质和整联蛋白受体机械性地将前体节中胚层的后向延伸与脊索的伸长偶联在一起（**图 17.10C**；Dray et al. 2013；McMillen and Holley 2015）。

前体节中胚层在开始生长后，如何被切割成重复的节段？对这一过程的关键性认知是将非洲爪蛙和小鼠的胚胎通过实验手段予以缩小，结果是形成了正常数目的体节，只是每个体节比正常的体节要小 (Tam 1981)。这个结果说明，有一个独立于分节组织大小的调控机制参与调节体节的数目。因此，我们可以细化一下我们的问题：是什么介导前体节中胚层细胞的上皮化，从而物理性地建立一个边界而形成一个体节？哪些机制确定这个边界形成的位置和时间？

体节如何形成：间充质到上皮转换　体节的结构由上皮性团块组成，尽管前体节中胚层只提供间充质细胞。因此，胚胎必须通过**间充质到上皮转换** (**mesenchymal-to-epithelial transition，MET**) 将间充质细胞转变为上皮细胞。这个过程涉及参与起始间充质到上皮转换的转录因子 Mesp (mesodermal posterior) 的上调。一个体节正在形成时，*Mesp* 的表达迅速被限定在体节的前半部分（**图 17.11A**）。Mesp 的一个



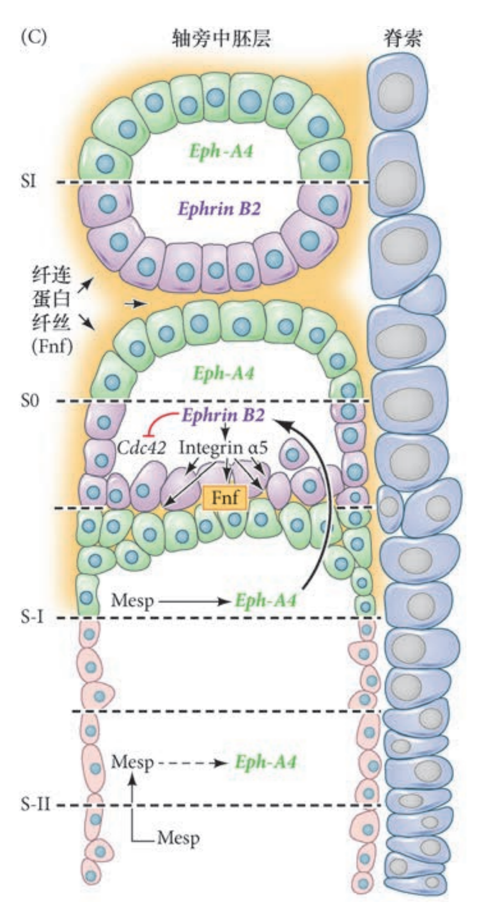


图 17.11 肝配蛋白和肝配蛋白受体信号调节体节边界形成过程中的上皮化。*Mesodermal posterior-a*（*Mesp-a*；深紫色）(A)、肝配蛋白受体 A4（*Eph-A4*；黑色箭所示）和肝配蛋白 B2（*ephrin B2* 红色箭所示）(B) 在斑马鱼胚胎（背面观）轴旁中胚层的表达。(C) Mesp-a 及肝配蛋白受体和肝配蛋白信号促进间充质到上皮转换，以确定一个体节边界两侧细胞的模型。*Mesp-a* 的表达局限在 S-I 体节球的前半部分，它在这个区域上调肝配蛋白受体 A4 的表达；然后，肝配蛋白受体 A4 上调其配体肝配蛋白 B2 在预定 S0 体节球后部细胞的表达，从而启动上皮化和一个边界的形成。抑制 *Cdc42* 并激活肝配蛋白 B2 下游的整联蛋白 -α5（Integrin α5）与纤连蛋白的相互作用有助于裂隙的形成（A 图和 B 图来自 Durbin et al.2000）。

主要功能是在体节球前部上调肝配蛋白受体的表达（**图 17.11B，C**）。肝配蛋白受体在体节球（S-I）预定前部边界的活性触发其自身的配体（肝配蛋白）在相对的前部体节球的后半部分的表达上调（S0；见图 17.11B，C），这个图式在整个体节发生过程中顺序性地重复（**图 17.12**；Watanabe and Takahashi 2010；Fagotto et al. 2014；Cayuso et al. 2015；Liang et al. 2015）。

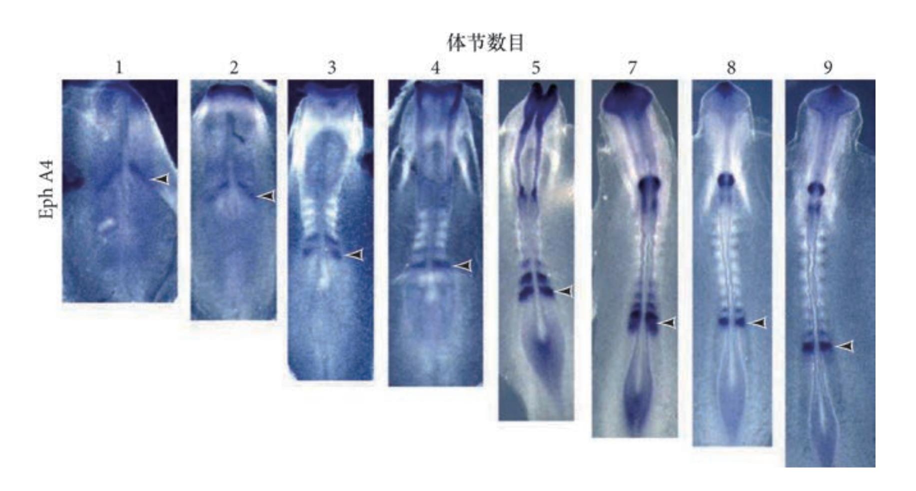


图 17.12 肝配蛋白及其受体为体节形成建立一个可能的裂隙位置。原位杂交显示肝配蛋白受体 A4（Eph A4；深蓝色；箭头）在鸡胚胎新体节形成时的表达（由 J. Kastner 提供）。

在第 15 章我们已知道，酪氨酸激酶肝配蛋白受体与它们的肝配蛋白配体能使体节后部区域和迁移中的神经嵴细胞之间产生细胞与细胞的排斥。类似地，体节从前体节中胚层前端的分离也发生在表达肝配蛋白和肝配蛋白受体的细胞之间的边界（见图 17.11C；Durbin et al. 1998）。干扰这一信号途径（在胚胎中注射编码显性失活的肝配蛋白受体的 mRNA）导致异常的体节边界形成。而且，在斑马鱼的融合体节突变体（*tbx6*）中，肝配蛋白受体 A4 缺失，肝配蛋白 B2 则泛表达在整个轴旁中胚层，后果是缺失体节边界（Barrios et al. 2003）。肝配蛋白受体 A4 和肝配蛋白 B2 信号途径通过调节两个下游因子——Rho 家族的

GTP 酶及整联蛋白 / 纤连蛋白的相互作用，在体节分割后迅速引起体节的上皮化。

间充质到上皮转换需要显著的细胞骨架重排，这通常受控于 Rho 家族的小 GTP 酶，如 Cdc42。活化的肝配蛋白 B2 信号抑制 Cdc42 活性，这样就使体节球零（S0）的前半部分相对于后半部分建立了更低水平的 Cdc42 功能。强制性降低 Cdc42 的活性导致超上皮化的体节，而诱导 Cdc42 的活性则抑制上皮化（Nakaya et al. 2004；Watanabe et al. 2009）。因此，间充质到上皮转换逐渐使前体节中胚层的边界形成是通过只在体节球的外周细胞中降低 Cdc42 的水平而实现的，这样就将其他呈现较高水平 Cdc42 的间充质细胞包裹起来，直到下一个边界裂隙事件的出现。尽管上皮化需要降低 Cdc42 的水平，但其他 Rho 家族的小 GTP 酶（如 Rac1）的差异性调节也参与体节的上皮化（Burgess et al. 1995；Barnes et al. 1997；Nakaya et al. 2004）。

与肝配蛋白受体 A4 和肝配蛋白 B2 信号对 Cdc42 的抑制性效果相反，这个信号增强整联蛋白 -α5 的活性，整联蛋白 -α5 进而促进纤连蛋白在未成熟体节周围的细胞外基质中的组装（见图 17.11C；Lash and Yamada 1986；Hatta et al. 1987；Saga et al. 1997；Durbin et al. 1998；Linask et al. 1998；Barrios et al. 2003；Koshida et al. 2005；Jülich et al. 2009；Watanabe et al. 2009）。纤连蛋白的组装增强上皮细胞的分离，并完成体节边界的形成（Jülich et al. 2015；McMillen and Holley 2015 综述）。

17.3.2 时钟 - 波阵面模型

体节在同一时间出现在胚胎两侧，即使与胚胎的其他部分隔离，前体节中胚层也会在正确的时间以正确的方向进行分节（Palmeirim et al. 1997）。目前用于解释体节同步形成的主导模型是 Cooke 和 Zeeman 提出的时钟 - 前导波模型（Cooke and Zeeman 1976；Hubaud and Pourquié 2014 综述）。在这个模型中，两个汇聚的系统相互作用，调节：①一个边界能够形成的位置（波阵面）；②上皮边界应该形成的时间（时钟）。

波阵面，更恰当地称为**决定前沿**（**determination front**），是前体节中胚层内后部高而前部低的成纤维细胞生长因子活性梯度所建立的，这个梯度正好与前部高而后部低的视黄酸梯度相反（**图 17.13**）。成纤维细胞生长因子信号将前体节中胚层细胞维持在未成熟的状态，因此，接触低阈值浓度的成纤维细胞生长因子活性的那些细胞变得有能力形成边界。但是，只有那些既具有应答能力又接收了形成边界的时间指令的细胞才能真正经历上皮化（Mesp 到肝配蛋白受体级联反应的激活）。

在什么时间建立一个分节裂隙的指令主要受控于 Notch 途径的时钟样振荡信号。Notch-Delta 的每次振荡都会组织一些前体节细胞，使它们在适当的成纤维细胞生长因子信号阈值下一起分节（见 Maroto et al. 2012）。在鸡胚胎中，大约每 90 min 形成一个新的体节。在小鼠胚胎中，这个时间范围不是很固定，但很接近 2 h；而在斑马鱼中，大约每 30 min 形成一个体节（Tam 1981；Kimmel et al. 1995）。

体节边界形成的位置：决定前沿 回想一下尾芽中一个新生的神经中胚层祖细胞的成熟；随着它进入前体节中胚层，体轴继续生长，这个细胞最终变成体节的一部分。有意思的是，一组细胞形成一个新体节的周期性通常发生在离尾芽相同距离的位置，尽管也有一些例外。这一发现表明，尾芽的向后延伸极大地影响边界形成的位置，并且的确如此。我们在前面讨论了视黄酸和成纤维细胞生长因子 /Wnt3a 信号的反向前

(A) Fgf8



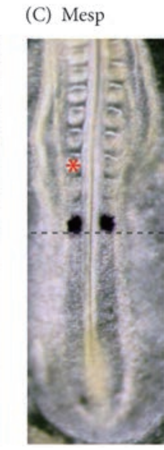


图 17.13 体节在视黄酸（前部）和成纤维细胞生长因子（后部）这两个区域的接合点形成。(A) 成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）在胚胎的后部表达（紫色）。(B) Raldh2（视黄醛脱氢酶）的 RNA 在胚胎的中央部分表达。(C) Mesp 的染色显示体节将要在后来形成的区域。星号显示最新形成的体节。虚线粗略标示体节正在被决定的边界区域（来自 Pourquié 2011）。

后梯度对神经中胚层祖细胞特化的作用（见图 17.6）。这种稳健的形态发生机制同样也被用于影响前体节中胚层细胞的成熟，使它们变得有能力形成边界，因此这个机制被称为“波阵面”、“波”或“决定前沿”（见图 17.13B）。为了在本节稍后讨论基因表达振荡波时避免潜在的混淆，我们在本章的后部分将使用“决定前沿”这个术语。

为了确定前体节中胚层中决定前沿的位置，人们在鸡胚胎中进行了一些优雅的体节翻转实验（**图 17.14A**；Dubrulle et al. 2001）。现在你知道，前体节中胚层的体节球首先发育出一个从前到后的预图式。翻转体节球 0 不会改变已经定型的基因表达图式，因为被翻转的组织仍然保持一个翻转的从后到前的图式（这个体节球区域已经被“决定”）。但是，对体节球 -III 和体节球 -VI 进行类似的翻转分别引起

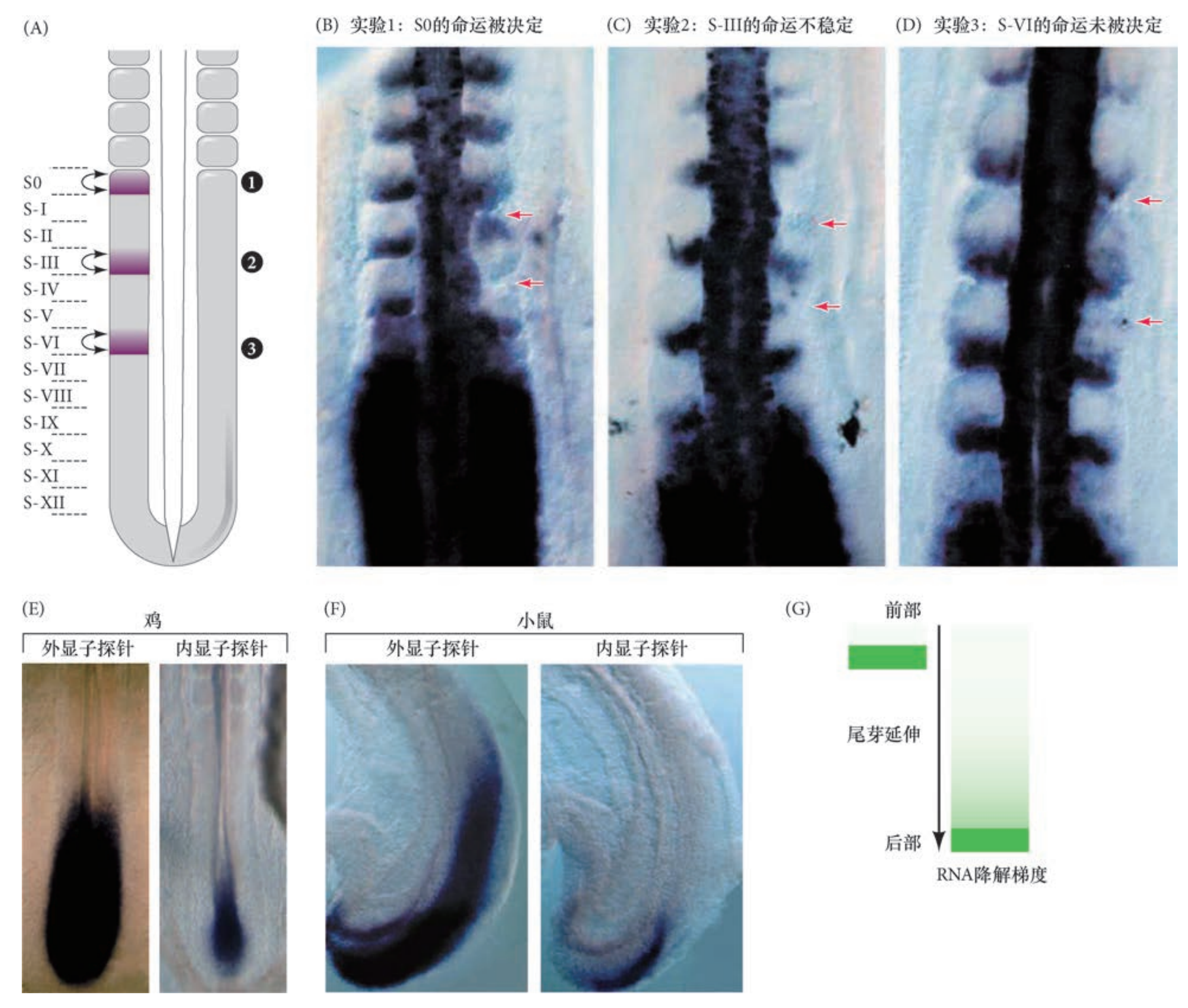


图 17.14 后部的成纤维细胞生长因子 -8 梯度建立“决定前沿”。(A) 一系列体节球组织翻转的示意图，显示不同中轴位置的前体节组织沿前 - 后体轴方向被迅速翻转。(B ～ D) 示意图中鸡胚胎的体节球在中轴水平被翻转后 *c-delta1* 基因的表达。对于每个示例，对照的一侧是左侧，实验的一侧是右侧。迅速翻转体节球 S0 显示 *c-delta1* 表达位置的完全定型，因此它已经被决定。相反，迅速翻转 S-VI 和 S-III 位置的体节球分别显示出 *c-delta1* 在后部的正常表达和紊乱表达。这些数据说明细胞被决定在 S-VI 的位置形成边界。红色箭显示手术翻转的位点。(E，F) 成纤维细胞生长因子 -8 在鸡和小鼠中的表达。外显子和内含子原位杂交探针分别显示表达成纤维细胞生长因子 -8 的 mRNA 或核 RNA（前体 RNA）的细胞。仔细观察这些结果显示出成纤维细胞生长因子 -8 梯度的两个重要特性。首先是成纤维细胞生长因子 -8 的基因仅在尾芽被活跃转录（内含子探针）。(G) 第二个特性是成纤维细胞生长因子 -8 在前体节中胚层的梯度由一个 RNA 降解机制而建立。绿色条带代表活跃转录成纤维细胞生长因子 -8 的细胞向尾部的移动，以及不再转录成纤维细胞生长因子 -8 的细胞中 RNA 随时间的降解所建立的后部梯度（A ～ D 图来自 Dubrelle et al. 2001；E ～ G 图来自 Dubrelle and Pourquié 2004）。

各种图式化的变化（“不稳定”），以及一个完全的极性重新调整（“未决定”）。这个研究结果说明决定前沿位于体节球 -IV（**图 17.14B ～ D**）。

决定前沿已经被确定是源自尾芽和原条亨氏结的成纤维细胞生长因子 -8 梯度的后缘。最有意思的是前体节中胚层中如何建立成纤维细胞生长因子 -8 的梯度。成纤维细胞生长因子 -8 仅在尾芽转录，而不在前体节中胚层转录（**图 17.14E，F**），因此，尾芽向后生长时，活跃转录成纤维细胞生长因子 -8 的细胞源头也向后生长。目前认为，对建立成纤维细胞生长因子梯度起主要作用的一种机制是 RNA 降解（Dubrulle and Pourquié 2004）。通过 RNA 降解的正常机制，成纤维细胞生长因子 -8 转录物在前体节中胚层细胞的表达量随着时间的推移而稳步下降，这将默认地建立了一个从后至前的成纤维细胞生长因子 -8 活性梯度（**图 17.14G**）。通过这种方式，成纤维细胞生长因子 -8 / 成纤维细胞生长因子 -4 及（也可能）Wnt3a 的坡度梯度在整个前体节中胚层为这些形态发生素提供了不同的阈值浓度。另外，成纤维细胞生长因子在前体节中胚层的转录缺失被抑制性视黄酸浓度在体节和前部前体节中胚层的逐渐升高进一步维持。这些反向的形态发生素在细胞水平上产生的结果是什么？

将附着成纤维细胞生长因子 -8 的珠子植入前体节中胚层（获得功能）或使用 SU5402 药物抑制成纤维细胞生长因子的受体（缺失功能），这些干预成纤维细胞生长因子 -8 梯度的轴向影响范围的实验分别产生了更小或更大的体节（Dubrulle et al. 2001）。这些发现可被解释为成纤维细胞生长因子 -8 形态发生素是上皮化的分子决定前沿，它的阈值在体节球 -IV 的充分降低使得中轴位置的那些细胞具有形成一个边界的能力。具体来说，位于成纤维细胞生长因子 -8 决定前沿的细胞变得有能力应答“分子钟”，而这个钟的闹铃在需要建立一个边界的时候就会响起。

体节边界形成的时间：时钟　科学家用时钟做比喻来描述边界（和体节）周期性形成的调控。一个胚胎的分子钟会像什么？它是否有指针能为细胞指示时间？这个时钟的一个周期持续多长时间？在细胞背景下，一个时钟可以是一个蛋白质活性开启和关闭的定期波动，前提是这种活性变化的确具有重复性和节奏性。然而，在组织背景下，这个波动的蛋白质时钟需要通过某种方式跨越一片细胞来传播。因此，体节发生的一个分子钟模型假定，调节间充质到上皮转换的一个蛋白质的活性可能首先在前体节中胚层的一个细胞中发挥功能，并且作为其功能的一个部分，通过细胞之间的相互作用将这个事件传递给邻近细胞，直到它的活性被周期性地抑制。这样，组织中的每个细胞都将经历蛋白质活性的“开启”和“关闭”状态，或时钟的嘀嗒声。

维持体节发生速度的关键“时钟”成分之一是 Notch 信号途径（见 Wahi et al. 2014）。如果将预定体节边界后缘区域的一小组细胞移植到通常不属于边界部分的前体节中胚层区域，这样就会产生一个新的边界。移植的边界细胞指令它们前面的细胞进行上皮化和分离。非边界细胞被移植到非边界区域将不会诱导边界的形成。但是，如果将活化的 Notch 蛋白通过电穿孔法转到这些细胞，它们就能获得边界形成的能力，这表明 Notch 信号能诱导参与体节形成的间充质到上皮转换（见网络话题 17.1；Sato et al. 2002）。

网络话题 17.1　**Notch 信号与体节形成**　Notch 信号途径是指令体节形成位置的关键因素之一。

促进间充质到上皮转换是这个特殊分子时钟的行为输出，但是 Notch 要作为这个计时器，它也必须具备“开”和“关”的节奏性，并能跨越细胞传递。小鼠的前体节中胚层具有内源的 Notch 活性，并且以确定的节段图式显示出与边界形成相关的振荡（Morimoto et al. 2005；Aulehla et al. 2008）。就像贯穿前体节中胚层的一个基因表达波一样，细胞从前体节中胚层的后端到前端范围经历 Notch 的上调和随后下调。这个 Notch 表达波终止于体节 0 的位置，一个体节边界便形成在表达 Notch 和不表达 Notch 区域之间的界面。

另外，Notch 信号提供了一种穿越前体节中胚层将这个信号在细胞之间传递的机制。如我们在第 4 章所述，全长的 Notch 是一个跨膜蛋白，在邻近细胞上与其配体 Delta 相结合。Delta 也是一个跨膜蛋白，Notch 的最初上调和呈递引起邻近细胞中 Delta 的伴随上调，这转而在周围的其他细胞中增强 Notch 信号。

这是一种 Notch-Delta 信号产生的图式形成机制，称为**侧抑制**（**lateral inhibition**）。这种配体到受体之间的配对提供了在整个前体节中胚层进行信号传递的机制；然而，这种机制预示 Notch 和 Delta 在整个前体节中胚层中的表达应该呈现出一种镶嵌图式，但实际情况并非如此。与 Notch 一样，Delta 也呈现出一种从后向前穿越前体节中胚层的振荡表达图式，这是时钟机制的一个关键特征。它是怎样产生的？

虽然呈现振荡的基因产物存在种间差异，但在所有脊椎动物中，时钟“开”和“关”的嘀嗒声都涉及 Notch 信号途径的一个负反馈回路（Krol et al. 2011；Eckalbar et al. 2012）。因此，在所有脊椎动物中，至少有一个在前体节中胚层中呈现动态振荡表达的 Notch 靶基因也能抑制 Notch 基因的表达，这样就建立了一个负反馈回路。这些抑制性蛋白是不稳定的，当抑制物被降解后，Notch 再次变得活跃。这样的反馈产生一个周期（“时钟”），其中 Notch 的基因被 Notch 自身诱导的一个蛋白质的缺失或存在所开启或关闭。这些“开”和“关”的振荡能为体节分节的周期性提供分子基础（Holley and Nüsslein-Volhard 2000；Jiang et al. 2000；Dale et al. 2003）。这种振荡的 Notch 靶基因包括 *Hairy1*、*Hairy/Enhancer of split-related proteins*（*Her*）和 *lunatic fringe*，它们都被 Notch 激活，从尾芽到最新形成的体节在整个前体节中胚层中以类似的振荡图式表达，并且全都负反馈抑制 Notch 信号（Chipman and Akam 2008；Pueyo et al. 2008）。例如，*Hairy1* 是第一个被发现以节奏性图式表达的 Notch 靶基因（图 17.15）。*Hairy1* 基因首先表达在前体节中胚层尾端的一个较广的区域。这个表达区域在变窄时向前移动，直到它到达前体节中胚层的前端，这时在尾端开始新一波的表达。Aulehla 及其同事在小鼠活体胚胎中观察了 *lunatic fringe* 转录活性的波动，发现它模拟 *Hairy1* 的图式。在鸡胚胎，一个表达波穿过前体节中胚层的时间是 90 min，这并非巧合，而是这个物种形成一对体节所需要的时间。这种动态表达并不是由于细胞运动，而是因为细胞通过负反馈回路在组织的不同区域开启和关闭基因的表达（Johnston et al. 1997；Palmeirim et al. 1997；Jouve et al. 2000，2002；Dale et al. 2003）。与之相关的是，在小鼠和人类，Notch 或其下游周期性靶基因的功能缺失导致严重的椎骨分节缺陷，如脊柱侧凸（弯）和脊椎肋骨发育不全中的脊柱变形（图 17.16；Zhang et al. 2002；Sparrow et al. 2006）。

观察发育 17.2　在你真正看到振荡发生之前，概念化特定组织中基因表达被开启和关闭的周期性可能会很抽象。使用一个携带荧光报道基因的小鼠，观察 *lunatic fringe* 基因表达在前体节中胚层的循环。

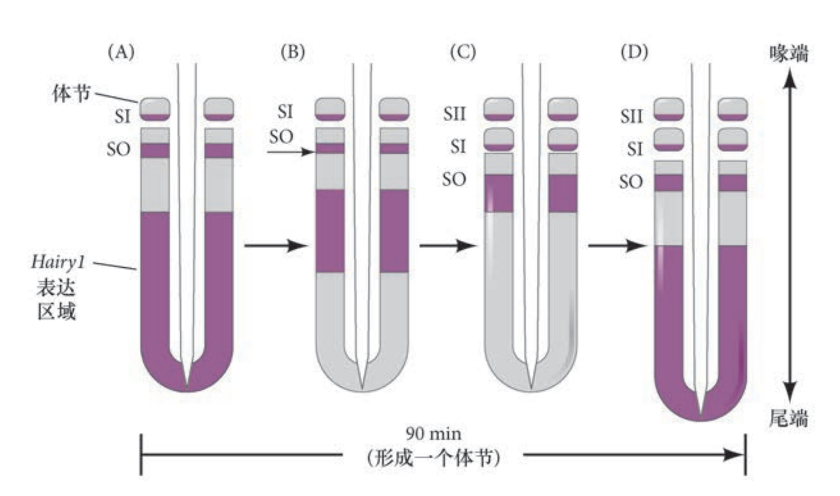
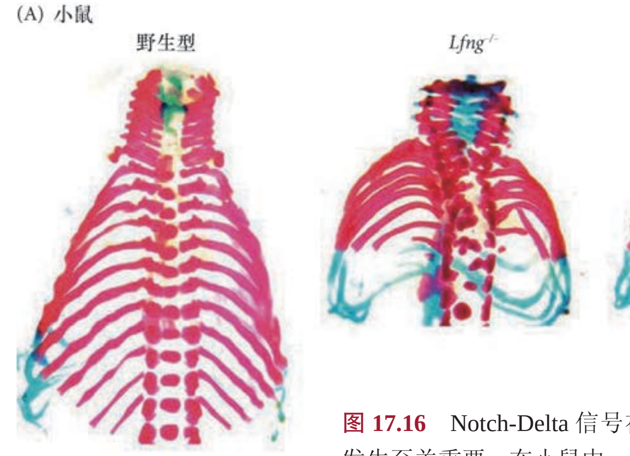


图 17.15　鸡的体节形成与 *Hairy1* 基因的波状表达相关。(A) 在鸡胚胎的后部，体节 SI 刚从前体节中胚层生长出来。*Hairy1* 基因的表达（紫色）位于这个体节的后半部和前体节中胚层的后部，以及将要形成下一个体节（S0）的后半部分的一个窄带。(B) 一个后部裂隙（小箭所示）开始将新体节与前体节中胚层分开。*Hairy1* 表达的最后部区域向前位移。(C) 新形成的体节被称为 SI，它的后半部分维持 *Hairy1* 的表达。*Hairy1* 在前体节中胚层表达的最后部区域再次向前位移并缩短。前一个 SI 体节，这时被称为 SII，开始进行分化。(D) 这个新形成的体节 SI 的构建已经完全结束，*Hairy1* 表达的一个新周期重新开始。在鸡胚胎，每个体节的形成及穿越前体节中胚层的 *Hairy1* 表达波大约需要 90 min。



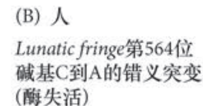




图 17.16　Notch-Delta 信号在小鼠和人类对正确的体节发生至关重要。在小鼠中，缺失 Notch 的靶基因 *Lunatic fringe*（$Lfng^{-/-}$）或其结合伙伴 *distaless3*（$Dll3^{-/-}$）导致严重的脊椎畸形（A），这与已知的人类 *Lunatic fringe* 基因突变所引起的表型特别相似（B）（A 图来自 Fisher et al. 2012；B 图来自 Sparrow et al. 2006）。

上皮化终止 Notch 时钟　如上所述，Mesp 是肝配蛋白受体和肝配蛋白级联在启动间充质到上皮转换和边界形成过程中的总调节物。Mesp 被 Notch 激活，并且作为一个转录因子反过来参与 Notch 的抑制（Morimoto et al. 2005）。这种交替激活和抑制的循环使得 Mesp 也在时间和空间上振荡表达。Mesp 最初表达在一个体节宽的区域；然后，它在这个区域的后半部分的表达被抑制，但在前半部分的表达仍被维持，在这个位置它转而抑制 Notch 的活性。在任何维持 Mesp 表达的位置，那组细胞就将变成下一个体节的最前端；肝配蛋白受体 A4 随后被诱导，边界也就在紧邻这些细胞的前部形成（见图 17.11C；Saga et al. 1997；Watanabe et al. 2005）。在未来体节的后半部分，Mesp 不表达，Notch 的活性诱导转录因子 Uncx4.1 表达，这个因子参与特化体节的后部特征（Takahashi et al. 2000；Saga 2007）。通过这种方式，体节边界被决定，体节也被同时赋予了前后极性。

拓展性问题

时钟的比喻是否很充分？这当然有助于我们理解影响体节发生的关键机制。但正如所有的时钟比喻一样，它假设时间速度保持不变。Andrew Oates 实验室的研究证明，在斑马鱼中，由于体轴延伸速度随着时间推移逐渐变化，振荡性分节基因的波（从开始到结束的时期）也在变短，研究人员把这一现象比作多普勒效应（Soroldoni et al. 2014）。体节发生的各个方面（体轴延伸、决定前沿、上皮化和时钟）如何复杂地协调在一起以应答变化？如果时间不是稳定的，你能提出哪种新模型来整合所有这些机制？

处在正确的位置和正确的时间：连接时钟和决定前沿　更后部位置的前体节中胚层细胞在接触 Notch 信号波时不会过早地上皮化，因为它们受成纤维细胞生长因子的影响而不具备充分应答 Notch 信号的能力。只要前体节间充质处在成纤维细胞生长因子 -8 浓度相对较高的区域，时钟就不会发挥功能。至少在斑马鱼中，这种功能的缺失似乎是因为 Notch 的主要配体 Delta 受到抑制。成纤维细胞生长因子 -8 与其受体的结合促使 Her13.2 蛋白的表达，这对抑制 Delta 转录是必需的（见 Dequéant and Pourquié 2008）。细胞从尾芽向前迁移需要成纤维细胞生长因子信号，但只要成纤维细胞生长因子激活胞外信号调节激酶这个转录因子，这些细胞就不会应答 Notch 的配体。新近的研究认为，成纤维细胞生长因子 -8 的合成也呈现周期性，但与 Notch 配体的频率不同（Niwa et al. 2011；Pourquié 2011）。因此，通过成纤维细胞生长因子 -8 的坡度性浓度梯度及其自身独特的周期性图式（可能是通过合成自身的抑制物以及受视黄酸的抑制）的组合，成纤维细胞生长因子信号在轴旁中胚层的某些区域被下调，这些区域的细胞逐渐变得更有能力应答 Notch 信号（图 17.17）。所以，成纤维细胞生长因子部署了能够应答振荡性 Notch 信号（时钟）的细胞（也就是决定

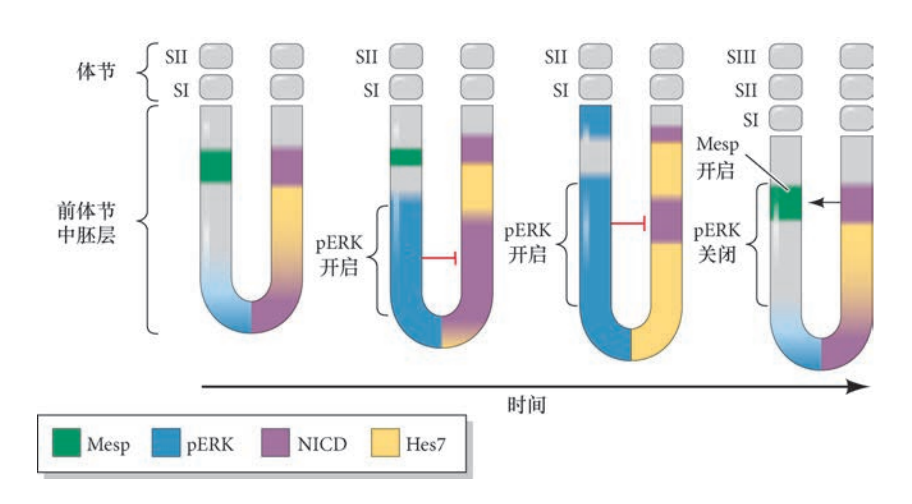


图 17.17 “时钟 - 波阵面”对体节特化的可能模型。在每组图示中，左侧显示成纤维细胞生长因子诱导的转录因子（pERK，磷酸化的胞外细胞调节激酶）和体节特化转录因子（Mesp），右侧显示 Notch 产生的转录因子（NICD，Notch 细胞内结构域）和 Notch 细胞内结构域诱导的抑制性蛋白 Hes7（参考 Niwa et al. 2011）。

前沿），这能诱导 Mesp2 起始间充质到上皮转换和肝配蛋白受体介导的体节形成[5]。

形成多少个体节？振荡速度与体轴延伸速度 上皮化的结果既依赖于接收 Notch 介导的一个基因表达波（作为“分节许可”），也需要在成纤维细胞生长因子 -8 的一个浓度阈值下变得有应答能力，这意味着体节的大小和数目是基于两个因素：分节振荡的速度和体轴延伸的速度。事实上，是这两种速度的比值设置了体节数目和大小的参数。例如，我们用 τ 代表时钟速度，α 代表体轴延伸速度。如果 α 既是持续的，也与 τ 相平衡，理论上就可以产生无限数目和相同大小的体节；或者，如果 τ 快于 α，体节形成最终将会赶上尾芽并终止体节发生。目前解释终止体节发生的模型是体轴延伸（α）减慢，随着新体节逐渐更接近尾芽，它们同时也带来视黄酸终止尾芽发育的抑制作用（Gomez and Pourquié 2009）。

体节的大小也能通过干预这些速度而以可预测的方式改变。不同物种中体节发生的比较分析表明，分子钟速度的调节是体节数目适应的一个主要机制。举个例子，蛇能有数百个体节，相比之下，小鼠和鸡大约只有 60 个，而斑马鱼大约有 30 个。Olivier Pourquié 及其同事在玉米锦蛇、小鼠和鸡（及其他物种）之间比较了前体节中胚层的延伸速度和分节时钟的速度。蛇的体节是小鼠或鸡体节的约 1/3（Gomez et al. 2008）。虽然蛇的前体节中胚层比鸡或小鼠的前体节中胚层稍大一些，但在蛇中产生大量小体积的体节的最主要原因是高度加速的时钟。*lunatic fringe* 等基因在蛇中显示出 9 个条带以上的振荡，相比之下，在鸡和小鼠中仅有 1 ～ 3 个条带（图 17.18；Gomez et al. 2008）。因此，体轴延伸过程中更多的 Notch 介导的振荡将前体节中胚层分隔更多次，产生更多的体节和更多的椎骨。

17.3.3 时钟 - 波阵面与同源异形基因介导的中轴特征及体节发生终结

体节发生不能无限期地持续下去，相反，它必须终止并且以正确的前后特征达到这个目的。如上所述，同源异形基因以时空共线性的方式对从头部至尾部的体轴特征的特化起主调节作用。那么时钟和决定前沿与同源异形基因的作用如何连接在一起？

如果干预成纤维细胞生长因子 -8 的蛋白水平以产生额外（尽管小一些）的体节，适当的同源异形基因表达就会在恰当的体节中被激活，尽管它在前 - 后轴方向位于不同的位置，这说明决定前沿（纤维细胞生长因子的梯度）主要影响体节的大小而不影响同源异形基因的表达。但是，影响自主性分节时钟的突变的确能影响恰当的同源异形基因的激活（Dubrulle et al. 2001；Zákány et al. 2001）。分节时钟对同源异形基因的调节可能会使新体节的形成和特化之间进行协调。目前还不完全清楚体节发生机制如何引起同源异形基因的调节。在非洲爪蛙中的研究表明，*XDelta2* —— 一个振荡表达的基因和 Notch 的配体，能上调至少三个不同的同源异形基因旁系同源组，并与这些同源异形框蛋白起始一个正反馈回路（Peres et al.

[5] Pourquié（2011）注意到，这似乎与肢芽中的情况很相似（见第 19 章），其中一组被成纤维细胞生长因子维持在相对未分化和迁移状态的新形成的细胞，通过与成纤维细胞生长因子和视黄酸这两个梯度的相互作用，分化为周期性的元件（肢软骨）。

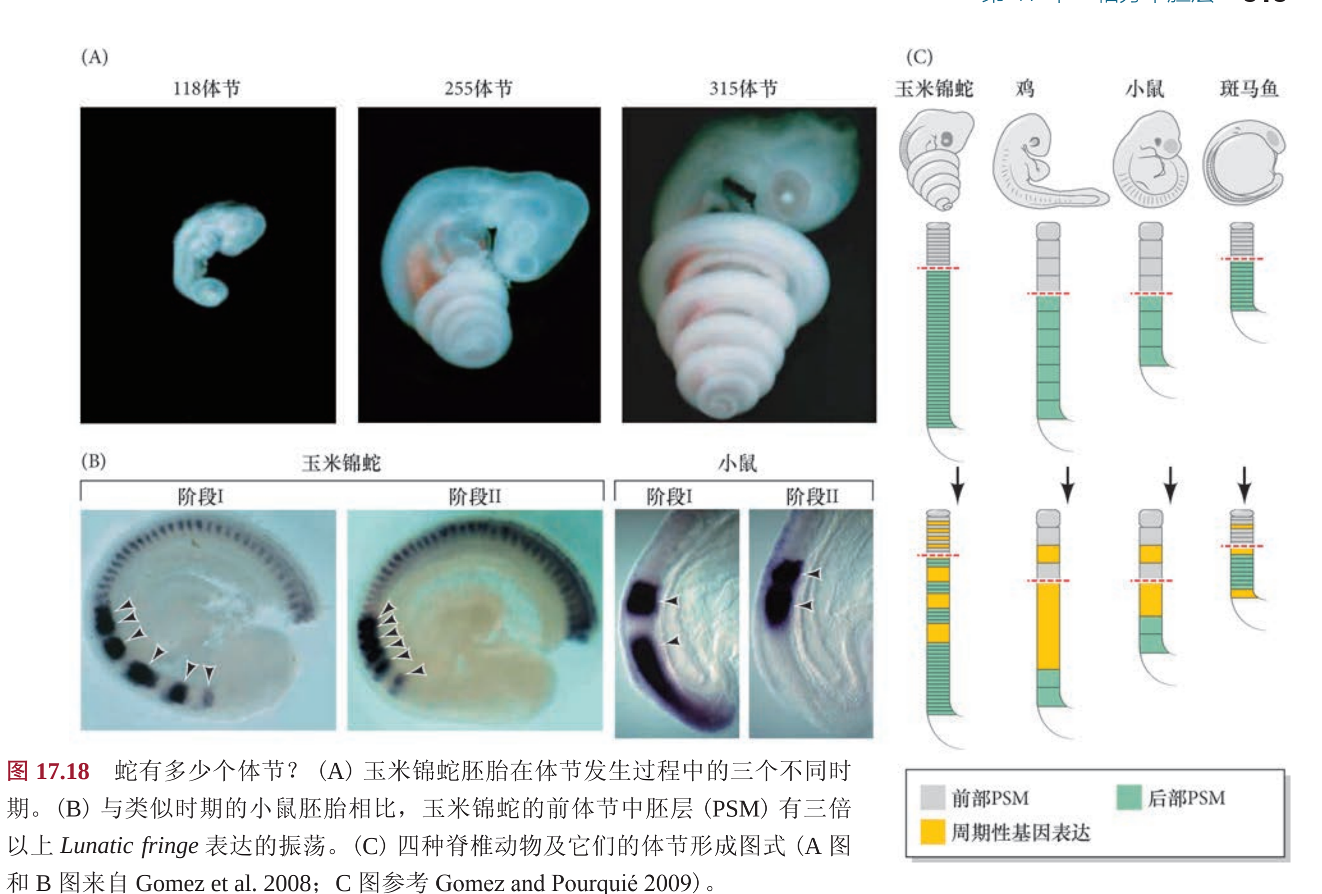


图 17.18 蛇有多少个体节？（A）玉米锦蛇胚胎在体节发生过程中的三个不同时期。（B）与类似时期的小鼠胚胎相比，玉米锦蛇的前体节中胚层（PSM）有三倍以上 *Lunatic fringe* 表达的振荡。（C）四种脊椎动物及它们的体节形成图式（A 图和 B 图来自 Gomez et al. 2008；C 图参考 Gomez and Pourquié 2009）。

2006）。基于这种关联，我们可以推测分节时钟可能直接触发同源异形基因的定时激活；但是，我们还不知道这种影响是通过共线性方式还是涉及了上述同源异形基因表达的染色质修饰。

同源异形基因沿躯干的表达一旦被启动，它将反馈到决定前沿以终止体轴延伸和结束体节发生。具体而言，紧位于 5′ 端基因簇的同源异形基因表达的共线性激活使 Wnt 信号在尾芽中逐渐受到更强的抑制（图 17.19；Denans et al. 2015）。回想一下，Wnt3a 从尾芽分泌出来并呈现出一个从后向前的梯度，与成纤维细胞生长因子 -8 的梯度类似。Wnt3a 促进神经中胚层祖细胞向前体节中胚层迁移，这样就推动了前体节中胚层的生长和体轴延伸（Dunty et al. 2008）。因此，当新的细胞随时间的推移而进入前体节中胚层并开始表达越来越多具有时间共线性的 5′ 端同源异形基因时，Wnt 信号逐渐被抑制，尾芽的生长减慢。在羊膜动物，分节时钟在这个时间并不显著改变其速度，因此，体节形成的速度将超过尾芽生长并耗尽前体节中胚层，导致体节发生的终止（Denans et al. 2015）。此外，同源异形基因介导的尾芽生长减缓以两

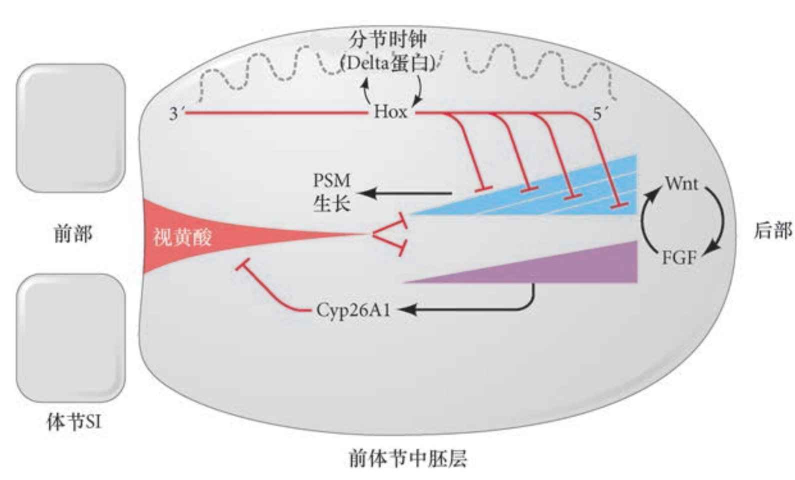


图 17.19 控制体节发生的调节性机制模型。分子分节时钟通过 Notch-Delta 指令同源异形基因（Hox）表达的顺序，这在一定程度上抑制 Wnt 信号并间接地抑制成纤维细胞生长因子 -8 的表达。因此，源自后部的 Wnt / 成纤维细胞生长因子 -8 决定前沿的水平既受到同源异形基因的影响，也受到视黄酸信号调控的前部结构发育的影响。视黄酸抑制成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt3a，而成纤维细胞生长因子 -8 能通过视黄酸分解代谢酶 Cyp26A1 来抑制视黄酸。通过这种信号平衡，前部体节在后部体节之前形成。FGF：成纤维细胞生长因子；PSM：前体节中胚层。

种方式被成纤维细胞生长因子信号的间接抑制所强化。首先，来自体节的视黄酸的作用范围将更有效地抑制成纤维细胞生长因子的表达；其次，Wnt 和成纤维细胞生长因子信号在一个正反馈回路中起作用，在尾芽中维持彼此的表达（Aulehla et al. 2003；Young et al. 2009；Naiche et al. 2011）。由于 Wnt 信号逐渐被抑制，成纤维细胞生长因子也随时间的推移间接地被下调。这转而导致视黄酸分解代谢酶 Cyp26A1 的下调，为视黄酸的过度活化提供了进一步的冗余（Iulianella et al. 1999）。总之，我们可以总结出一个模型，其中 5′ 端同源异形基因的时间共线性激活通过直接抑制 Wnt 信号而阻止体轴延伸，这间接地终止了决定前沿，并耗尽了前体节中胚层（Denans et al. 2015）。

17.4　生骨节的发育

一个体节在成熟时被分成两个主要的区室，即生骨节和生皮肌节。这些区室见于所有的脊椎动物，类似的结构也见于头索动物文昌鱼（与我们亲缘关系最近的无脊椎动物），表明它们是古老的胚胎结构（Devoto et al. 2006；Mansfield et al. 2015）。生骨节和生皮肌节的发育是一个复杂的故事，涉及上皮到间充质转换和一些信号级联。在这里，我们首先讲述生骨节的发育，然后再讨论生皮肌节的形成。

在体节形成后不久，外层上皮细胞和内部间质细胞开始显示出分化的迹象（**图 17.20A，E**）。第一个可见的标志出现在体节的腹内侧部分，细胞在这里进行上皮到间充质转换（**图 17.20B**），形成**生骨节**（**sclerotome**）。这种上皮到间充质转换对于建立一个能够迁移到中轴结构周围和构建脊柱的迁移性细胞群体有重要作用。在转换之前，生骨节祖细胞表达转录因子 Pax1，这个因子对它们向间充质转换及随后向软骨分化是必需的（Smith and Tuan 1996）。在转换中，上皮细胞失去神经钙黏素的表达并变成运动性的间充质（**图 17.20C，D，F**；Sosic et al. 1997）。生骨节细胞也表达一些肌细胞形成转录因子（生肌调节因子）的抑制物，我们马上就会在后面予以讨论（Chen et al. 1996）。

如本章前面所述，构成生骨节的间充质细胞可以细分为几个区域（见图 17.2E）。虽然多数生骨节细胞变成椎软骨和肋软骨的前体，但背部的生骨节形成产生腱的**生腱节**（**syndetome**），最接近神经管的内侧生骨节细胞产生脊髓被膜（覆盖物），以及为脊髓提供营养和氧的血管（Halata et al. 1990；Nimmagadda et al. 2007）。体节中央的细胞（保持间充质性）也参与形成生骨节，变成椎关节、椎骨之间的软骨盘（椎间盘），以及最接近椎骨的肋骨部分（Mittapalli et al. 2005；Christ et al. 2007；Scaal 2015）。这个体节区域被称为**生关节节**（**arthrotome**）。

像一块抢手的房地产一样，体节中一个特定部位的命运取决于三个因素：位置、位置、还是位置。如**图 17.21** 所示，体节中各个区域的位置都接近不同的信号中心，如脊索和神经管底板（Sonic hedgehog 和头蛋白的源头）、神经管（Wnt 和骨形态发生蛋白的源头）及表面上皮（也是 Wnt 和骨形态发生蛋白的一个源头）。生骨节前体位于体节的腹内侧区域，因此最接近脊索。这些细胞被来自脊索的旁分泌因子，特别是 Sonic hedgehog，诱导变成生骨节（Fan and Tessier-Lavigne 1994；Johnson et al. 1994）。如果将鸡胚胎脊索的一些部分移植到体节其他区域的近旁，这些区域也会变成生骨节细胞。脊索和体节也分泌骨形态发生蛋白的两种拮抗剂——头蛋白和 Gremlin。骨形态发生蛋白的缺失对 Sonic hedgehog 诱导软骨发育尤为关键，如果缺失任何一种抑制物（头蛋白或 Gremlin），生骨节就不能形成，鸡也就缺少正常的椎骨。

17.4.1　椎骨形成

Sonic hedgehog 对生骨节的特化是必需的，然而，是什么信号指引生骨节细胞向脊索和神经管周围迁移而形成椎骨？脊索似乎诱导周围的间充质细胞分泌表皮形态发生素。这个蛋白质然后将生骨节细胞吸引到脊索和神经管周围的区域，在这里它们开始致密并分化成软骨（**图 17.22A**；Oka et al. 2006）。此外，向更背部迁移至神经管顶部以形成椎骨棘突的生骨节细胞似乎被紧位于它们下部的生骨节细胞所分泌的血小板源性生长因子所诱导。迁移的细胞通过表达 II 型转化生长因子 -β 受体而能够应答这些血小板源性

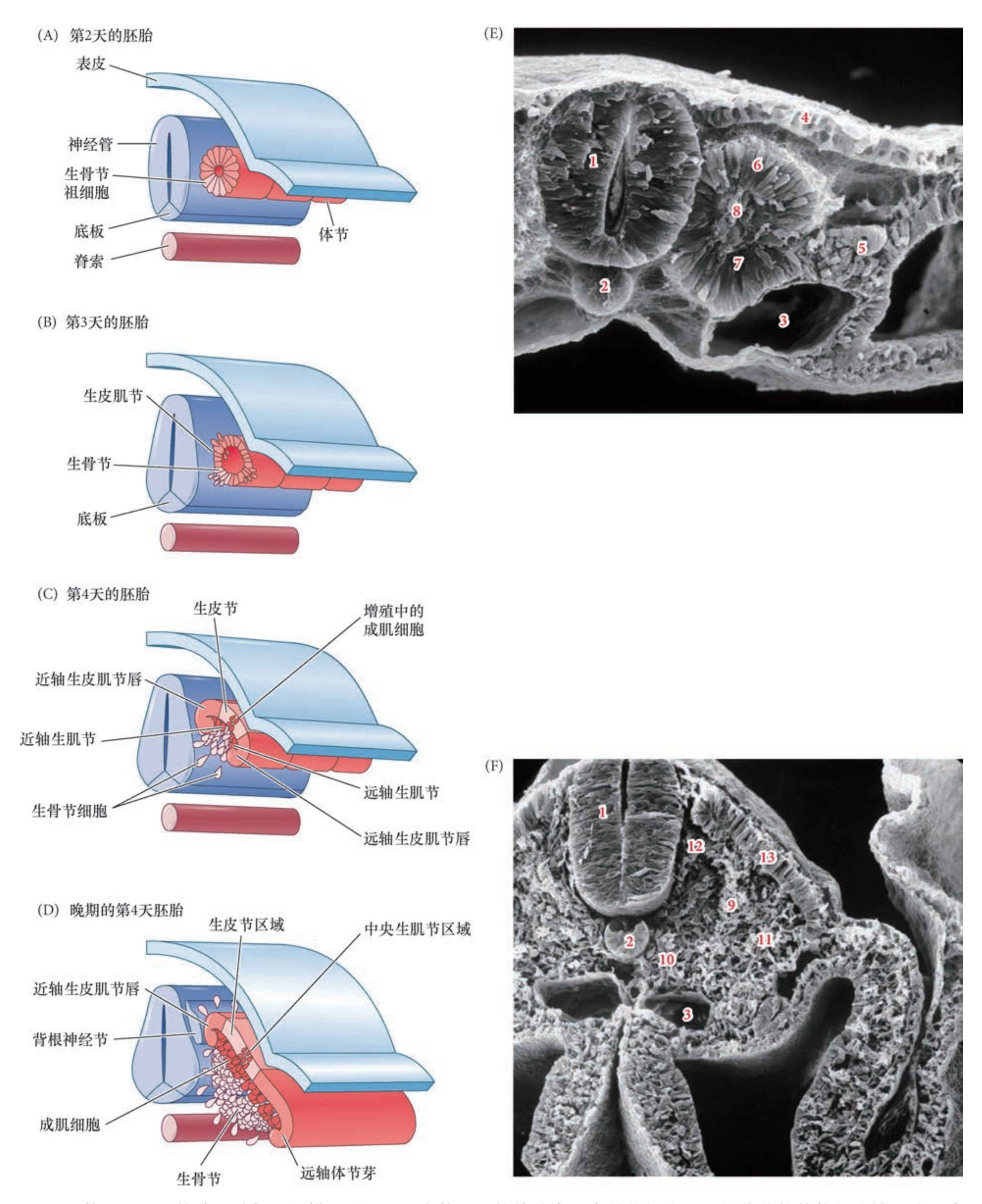


图 17.20　第 2 ～ 4 天的鸡胚胎躯干部横切面。(A) 在第 2 天的体节中，生骨节细胞可以从体节的其他部分被区分开来。(B) 在第 3 天，生骨节细胞失去彼此之间的黏附并向神经管迁移。(C) 剩余的细胞在第 4 天进行分裂。内侧的细胞在生皮肌节下部形成一个近轴生肌节，外侧的细胞形成一个远轴生肌节。(D) 一层肌细胞前体（生肌节）在上皮性生皮肌节的下部形成。(E，F) 分别对应于 (A) 和 (D) 的扫描电子显微镜照片；1，神经管；2，脊索；3，背主动脉；4，表面外胚层；5，居间中胚层；6，体节背半部分；7，体节腹半部分；8，体节腔 / 生关节节；9，中央生骨节；10，腹侧生骨节；11，外侧生骨节；12，背侧生骨节；13，生皮肌节（A 图和 B 图参考 Langman 1981；C 图和 D 图参考 Ordahl 1993；E 图和 F 图来自 Christ et al. 2007，由 H. J. Jacob 和 B. Crisley 提供）。

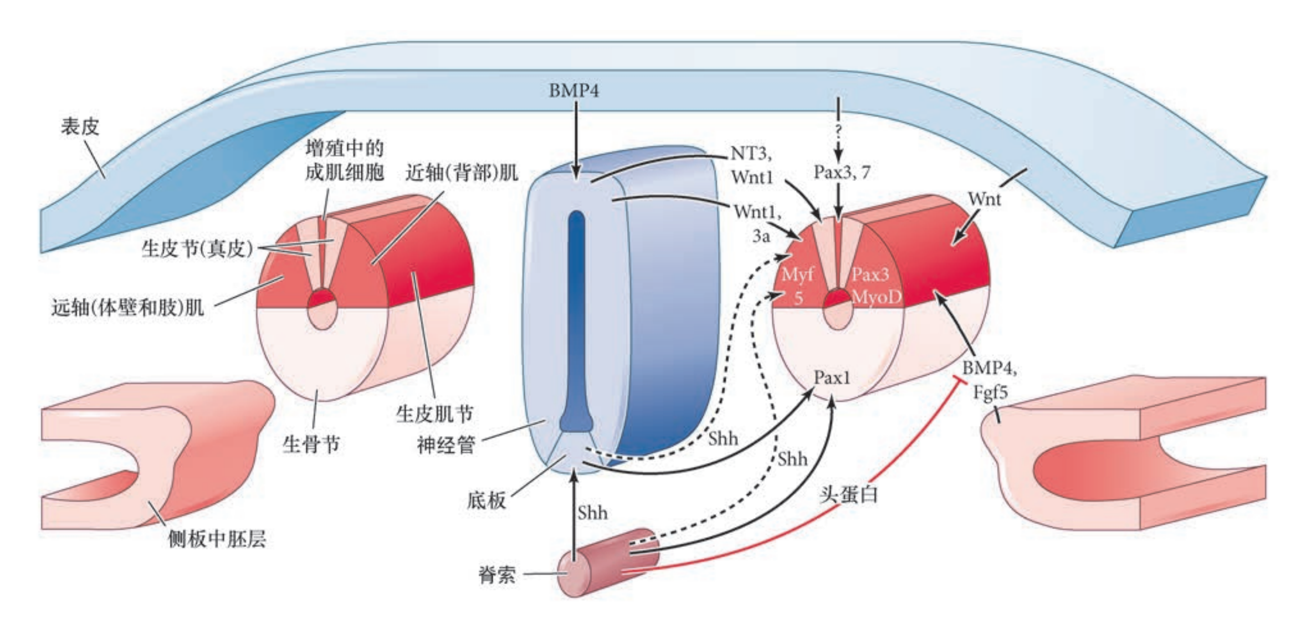


图 17.21 体节图式化中推测的一些主要相互作用的模型。白色显示生骨节；红色和粉红色显示生皮肌节区域。一组 Wnt（可能是 Wnt1 和 Wnt3a）在神经管背部受骨形态发生蛋白 -4（BMP4）的诱导。这些 Wnt 蛋白与源自脊索和神经管底板的低浓度 Sonic hedgehog（Shh）共同诱导近轴生肌节的形成，这个生肌节合成生肌转录因子 Myf5（成肌因子 -5）。源自脊索和神经管底板的高浓度 Shh 诱导那些预定形成生骨节的细胞表达 Pax1。源自神经管背部的某些浓度的神经营养因子 -3（NT3）似乎特化生皮节，而源自表皮的 Wnt 蛋白与源自侧板中胚层的骨形态发生蛋白 -4 和成纤维细胞生长因子 -5（Fgf5）可能共同诱导近轴生肌节。正在增殖的成肌细胞表达 Pax3 和 Pax7，并受来自表皮的 Wnt 所诱导。MyoD：肌分化因子（参考 Cossu et al. 1996b）。

生长因子信号（Wang and Serra 2012）。

在生骨节的细胞形成椎骨之前，每个生骨节必须分割成一个喙端节（前端节）和一个尾端节（**图 17.22B**）。当神经管的运动神经元侧向生长以支配新形成的肌肉时，每个生骨节的前端节与其前部生骨节的尾端节通过一个称为**再分节**（**resegmentation**）的过程重新组合形成椎骨原基（Remak 1850）。这种相邻体节参与的划分在鹌鹑和鸡的嵌合体中被证实，其中鹌鹑体节的前端部分或尾端部分被移植到鸡胚胎体节的相同位置。鹌鹑的特异性抗原很容易在细胞上被识别，使分化的结构能被追溯到供体组织（Aoyama and Asamoto 2000；Huang et al. 2000）。虽然鸡胚胎中的这些实验支持了半部分生骨节的明显的再分节，但在斑马鱼中生骨节的两半部分可能会更多地混合而形成椎骨（Morin-Kensicki et al. 2002）。只有生骨节而没有生肌节参与的再分节使得肌肉能够协调骨骼的运动，并且使身体能够侧向运动，这种运动让人联想起昆虫从副体节构建体节时所使用的策略（见第 9 章）。生骨节中的生关节节区域所形成的椎间（滑膜）关节能使脊柱进行弯扭运动。从生关节节中去除生骨节细胞导致滑膜关节无法形成和相邻椎骨的融合（Mittapalli et al. 2005）。

脊索帮助椎骨的形态发生并变成椎间盘的一部分 脊索及其分泌的 Sonic hedgehog 对生骨节的发育尤为关键。如前所述，脊索对体轴延伸也很重要，这又影响脊柱的形态发生。在斑马鱼中，脊索细胞异常的液泡填充导致脊索的屈曲，以及随后的椎骨融合和相关的脊柱缺陷（Ellis et al. 2013）。正确的脊柱形成需要正确的脊索形成的其他证据来自一些破坏脊索周围细胞外基质鞘完整性的实验。如果在斑马鱼胚胎中抑制这个基质鞘的一个胶原蛋白的形成，脊索便会弯曲，导致不规则的骨沉积、椎骨融合，以及类似于人类脊柱侧凸（弯）的脊柱弯曲（**图 17.23A，B**；Gray et al. 2014）。

在成体中脊索发生了什么样的变化？有一个常识错误是脊索完成了诱导和体轴支撑作用后便彻底退化。这个想法有一些道理，因为脊索中的一些细胞在椎骨形成后似乎通过细胞凋亡而死亡，这很可能是机械力发出的信号。但有意思的是，向脊索侵入的椎骨所产生的相同拉力也将脊索分隔成一些被保留下来并发育成为**髓核**（**nucleus pulposus**）的较小单元（Aszódi et al. 1998；Choi et al. 2008；Guehring et al.

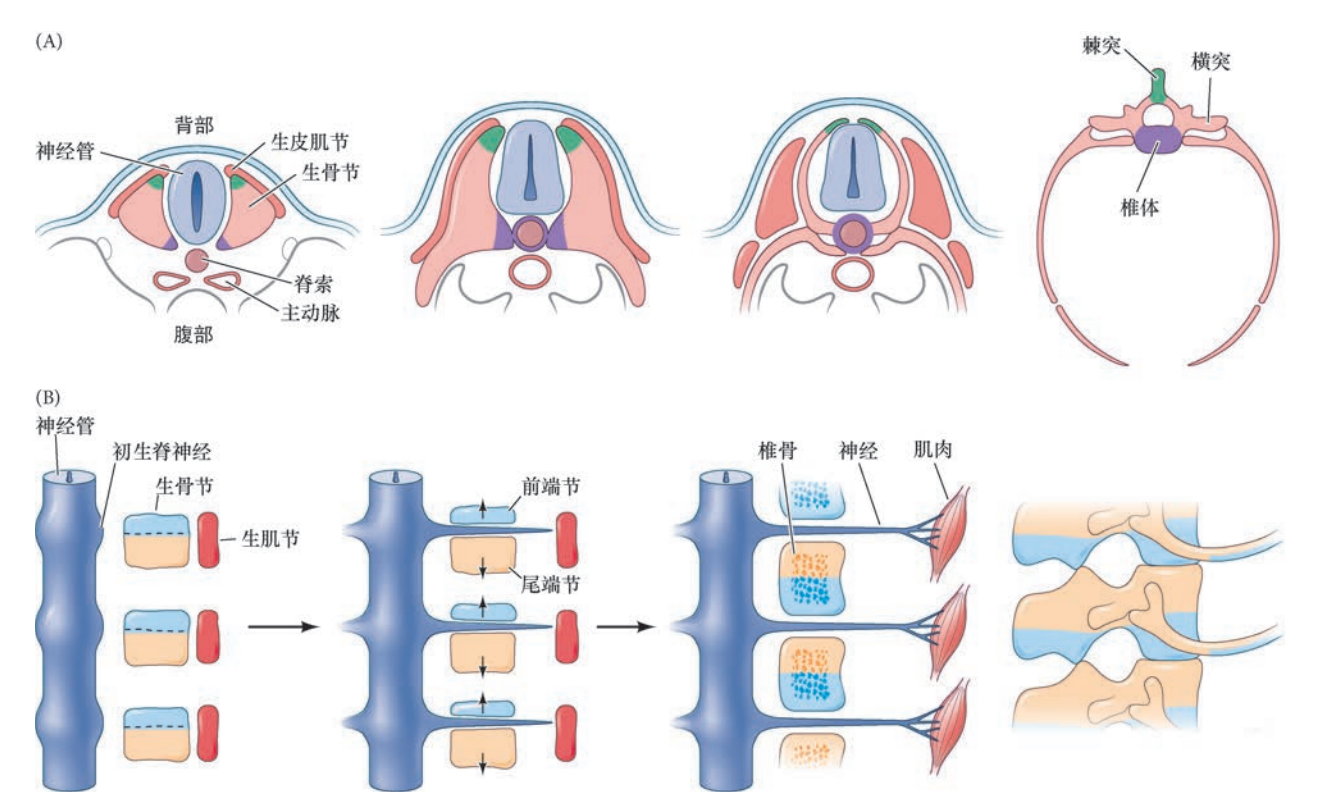


图 17.22　生骨节通过再分节形成椎骨。(A) 生骨节逐渐发育形成椎骨的图示。(B) 每个生骨节分割成一个前端节和一个尾端节。当脊髓神经元外向生长以支配来自生肌节的肌细胞时，每个生骨节的前端节与紧位于其前部的生骨节的尾端节组合形成一个椎骨原基 (A 图参考 Christ et al. 2000；B 图参考 Larson 1998 和 Aoyama and Asamoto 2000)。

2009；McCann et al. 2011；Risbud and Shapiro 2011；Chan et al. 2014；Lawson and Harfe 2015)。最重要的是，源自脊索的髓核已经在小鼠中通过谱系追踪实验得到了证明 (Choi et al. 2008；McCann et al. 2011)。髓核在椎间盘的中央形成一个胶状的团块，被纤维环（来自生骨节的一种结缔组织）所环围（**图 17.23C**）。这就是在某些背部创伤中“滑脱”的那些椎间盘。

关于调节椎间盘形成的机制还知之甚少，但脊索鞘似乎对髓核的发育至关重要 (Choi and Harfe 2011；Choi 2012)。在一些弱化细胞外鞘形成的实验中，来自正在形成的椎体的压力能分散脊索细胞，使髓核不能形成（**图 17.23D**；Choi and Harfe 2011)。

17.4.2　腱的形成：生腱节

生骨节的最背部将变成体节的第四个区室——生腱节。生腱节的腱形成细胞可以通过它们所表达的 *scleraxis* 基因被显示出来（**图 17.24**；Schweitzer et al. 2001；Brent et al. 2003)。因为生骨节和生腱节细胞之间没有明显的形态区别（都是间充质细胞），直到有了可以区分生骨节和生腱节的分子标记物 (Pax1 标记生骨节、scleraxis 标记生腱节），使得研究人员能够追踪细胞的命运，我们对这个体节区室才有所认识。

因为腱将肌肉连接到骨骼，因此毫不奇怪，生腱节（希腊语 *syn*，“连接的”）来自生骨节的最背侧部分，也就是说它来自邻近生肌节（形成肌肉）的生骨节细胞（**图 17.25A**）。生腱节的产生是由于生肌节向紧邻的下一排生骨节细胞分泌成纤维细胞生长因子 -8 (Brent et al. 2003；Brent and Tabin 2004)。其他转录因子将 scleraxis 的表达限制在生腱节的前部和后部，产生两个表达 scleraxis 的条带（**图 17.25B**）。同时，发育中的软骨细胞受来自脊索和底板的 Sonic hedgehog 的影响而合成转录因子 Sox5 和 Sox6，这两个因子在阻断 *scleraxis* 转录的同时也激活促软骨形成因子 Sox9 的表达 (Yamashita et al. 2012)。以这种方式，软骨保护自身免受成纤维细胞生长因子 -8 信号扩散的影响。然后，腱与紧邻其上的肌肉和位于两侧的骨骼（包括肋骨）相连接（**图 17.25C**；Brent et al. 2005)。

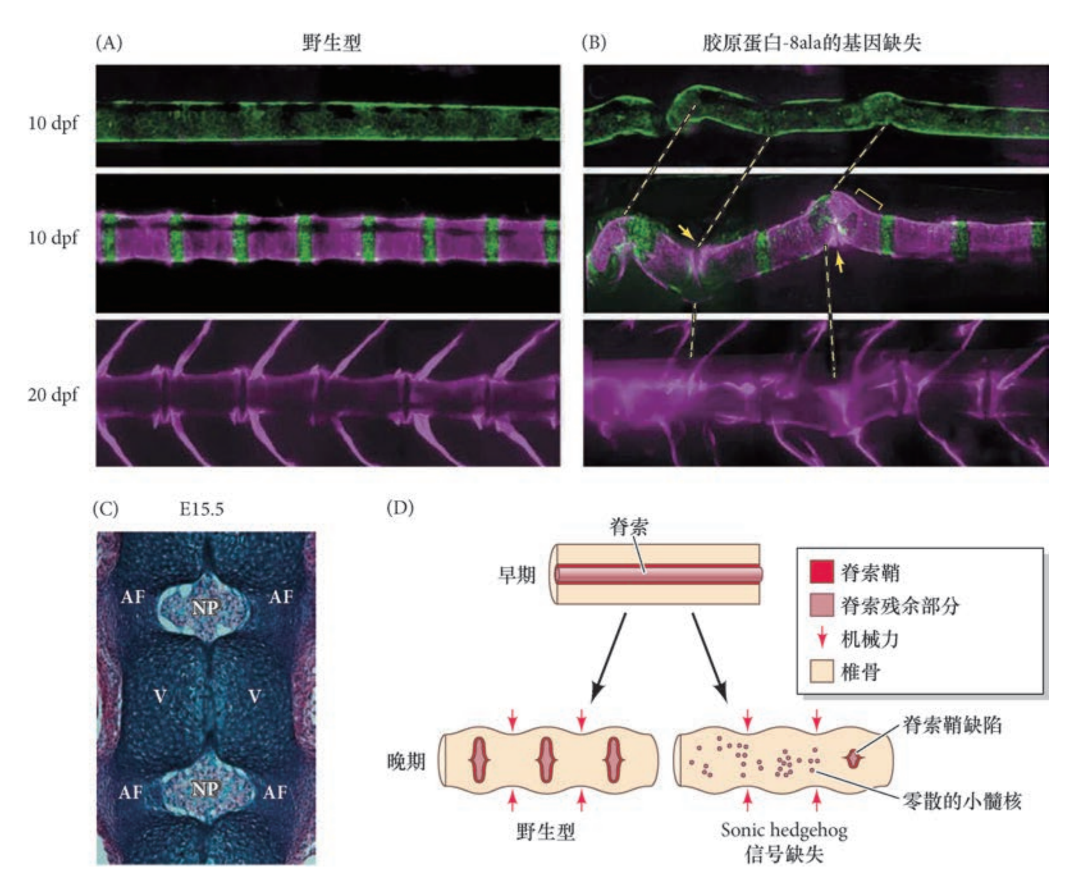


图 17.23 脊柱和椎间盘的发育。(A) 胶原蛋白 -8a1a 通常在整个脊柱中表达，如 *Col2a1* 转基因斑马鱼所示（绿色）。(B) 缺失胶原蛋白 -8a1a 后明显无法正常形成一个笔直的脊柱并引起椎骨融合，如茜素红对骨的染色所示（紫红色）。(C) 第 15.5 天的小鼠中一个椎骨及相随的髓核 (NP)。椎骨 (V)；纤维环 (AF)。(D) 脊索鞘在小部分脊索发育成髓核时对它们进行维持的模型。缺失正常的 Sonic hedgehog 信号（比如在 *smoothened* 的突变体中）导致不同程度的脊索鞘减少，因此不能形成髓核。dpf：受精后的天数 (A 图和 B 图来自 Gray et al. 2014；C 图来自 Lawson and Harfe 2015；D 图参考 Choi and Harfe 2011)。

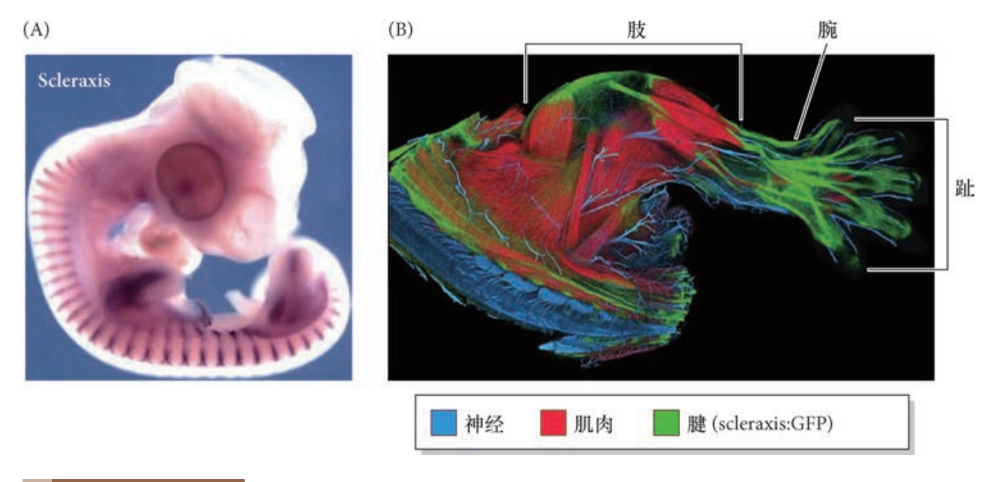


图 17.24 Scleraxis 在腱祖细胞中的表达。(A) 原位杂交显示 *scleraxis* 在发育的鸡胚胎中的表达图式。(B) 一个新生小鼠的肢、腕和趾，显示 *scleraxis*（与绿色荧光蛋白融合）表达在连接肌肉（用肌球蛋白的抗体染为红色）的腱（绿色）。神经元被神经丝蛋白的抗体染成蓝色 (A 图来自 Schweitzer et al. 2001，由 R. Schweitzer 提供；B 图由 A. K. Lewis 和 G.Kardon 提供）。

拓展性问题

有些物种不形成髓核；鸡就是其中一个例子。在这些动物中脊索细胞变成了什么？它们是全部退化了，还是有些细胞参与形成了脊柱的其他结构？另外，虽然机械力似乎参与髓核的发育，是否有任何分子信息也引导它们的形成？鉴于表达在中轴结构的一系列导向信息（肝配蛋白受体 - 肝配蛋白、神经轴突导向因子、slit)，它们能否指令脊索细胞合并成一些分节的集落？令人惊讶的是，尽管脊索在发育中发挥“中心”作用，但有关其自身细胞谱系发育的根本问题仍不清楚。

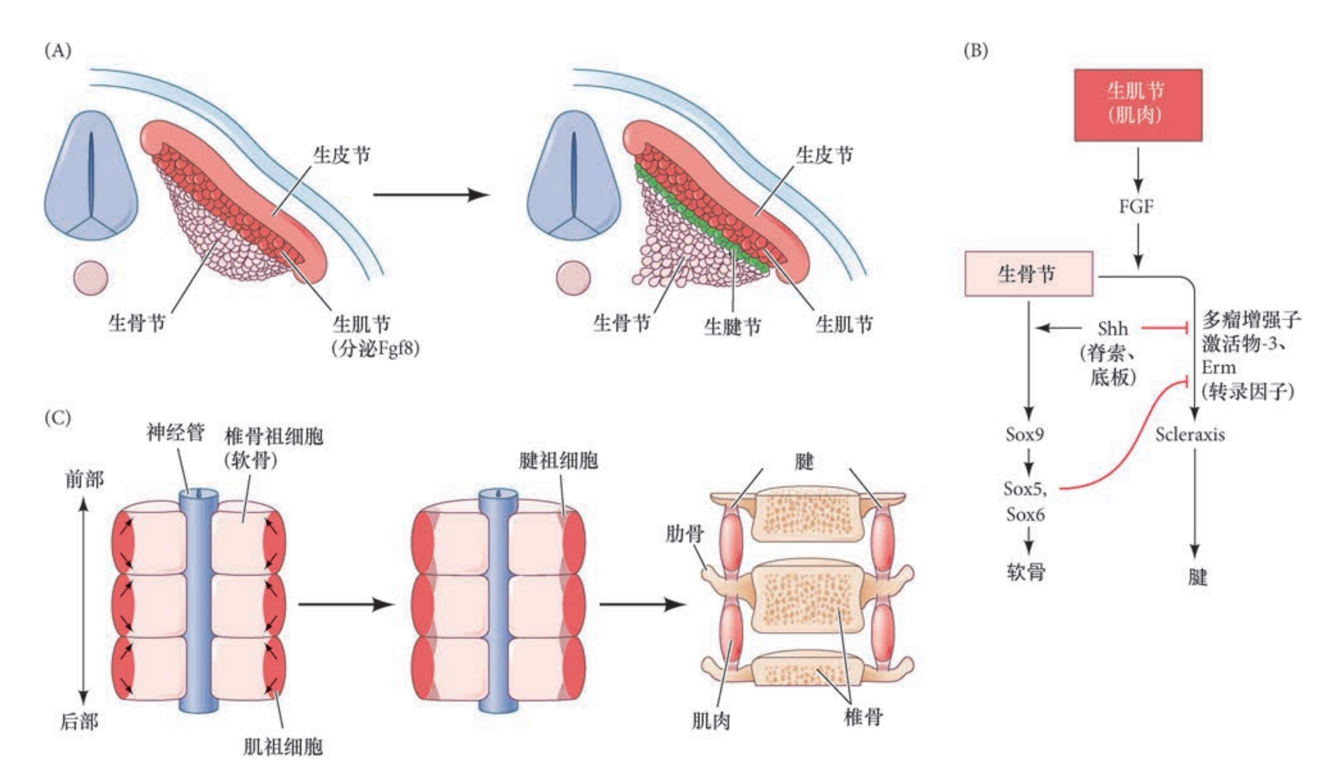


图 17.25　源自生肌节的成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）在鸡的生骨节中对 scleraxis 的诱导。（A）生皮节、生肌节和生骨节在腱前体被特化之前形成。生骨节最背侧的一排细胞接收生肌节分泌的成纤维细胞生长因子 -8 后被特化为腱前体（生腱节）。（B）来自肌前体细胞的成纤维细胞生长因子 -8 信号诱导下一排生骨节细胞变成腱的途径。（C）生腱节细胞沿发育中的椎骨迁移（箭所示），它们分化成腱，将肋骨连接到排骨爱好者宠爱的肋间肌（A 图和 C 图参考 Brent et al. 2003）。

17.4.3　背主动脉的形成

羊膜动物早期胚胎的大部分循环系统都被引导向胚胎的外部，其作用是从卵黄或胎盘获取营养。胚胎内循环系统的发生起始于背主动脉的形成。背主动脉由两层细胞构成：一层内皮细胞组成的内壁被一层平滑肌细胞以同心圆的方式环围。在身体其他部位，血管的这两层细胞通常来自侧板中胚层，我们将在第 18 章详细描述。但生骨节的后部为背主动脉和椎间血管提供内皮细胞和平滑肌细胞（见图 17.2E，F；Pardanaud et al. 1996；Wiegreffe et al. 2007）。预定内皮细胞被 Notch 信号以依赖于肝配蛋白 B2 的方式所诱导。这些生骨节细胞被一个来自初级背主动脉（侧板中胚层产生的一个过渡性结构）的假定趋化物指令向腹部迁移。最终，来自生骨节的内皮细胞取代初级背主动脉的细胞，后者将变成血液干细胞群体的一部分（Pouget et al. 2008；Sato et al. 2008；Ohata et al. 2009）。

17.5　生皮肌节的发育

生皮肌节（**dermomyotome**）位于体节的背外侧半部分。与生骨节表现出的彻底的上皮到间充质转换相比，它维持大部分上皮性结构。各种分析（包括鸡和鹌鹑嵌合体的命运图谱）发现，生皮肌节可以被分成三个不同的功能区域：生皮节、生肌节和迁移性的成肌细胞（见图 17.2；Ordahl and Le Douarin 1992；Brand-Saberi et al. 1996；Kato and Aoyama 1998）。这个上皮的两个最外侧部分的细胞被称为背内唇和腹外唇（分别离神经管最近和最远），它们共同作为形成生肌节的祖细胞区，产生躯干和四肢的骨骼肌细胞。来自背内唇和腹外唇的肌前体细胞，即**成肌细胞**（**myoblast**），将在生皮肌节的下部迁移以形成生肌节

（见图 17.25A）。生肌节中最接近神经管的那些成肌细胞形成位于中央的**近轴肌**（**primaxial muscle**）[6]，包括肋骨之间的肋间肌及背部的深层肌；离神经管最远的那些成肌细胞产生体壁、四肢和舌的**远轴肌**（**abaxial muscle**）。**生皮节**（**dermatome**）位于生皮肌节的最中央区域，将形成背部的真皮及多种其他衍生物。近轴肌和远轴肌之间、源自体节和源自侧板的真皮之间的边界称为**外侧体节边界**（**lateral somitic frontier**）。多种转录因子能区分近轴肌和远轴肌（**图 17.26**；Christ and Ordahl 1995；Burke and Nowicki 2003；Nowicki et al. 2003）。

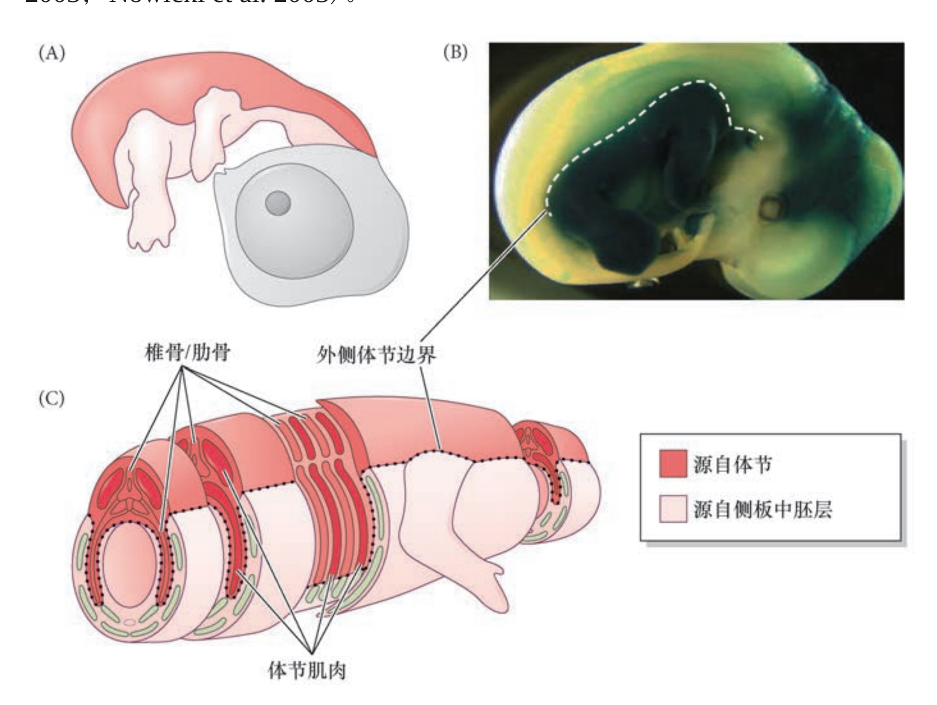


图 17.26 脊椎动物中胚层的近轴和远轴区域。（A）早期鸡胚胎中胚层（红色）的分化。（B）在第 9 天的鸡胚胎中，深色的染色显示 *Prox1* 表达在躯干的远轴区域。染色区域与未染色区域之间的边界是外侧体节边界（虚线）。（C）在第 13 天的鸡胚胎中，中胚层的区域化显而易见（A 图和 C 图参考 Winslow et al. 2007；B 图来自 Durland et al. 2008，由 A. C. Burke 提供）。

躯体腹部的真皮来自侧板，头和颈部的真皮至少有一部分来自颅神经嵴。但是在躯干部，生皮节的主要产物是背部真皮的前体。另外，新近的研究表明生皮肌节的中央区域也能产生一个群体的肌细胞（Gros et al. 2005；Relaix et al. 2005）。因此，对于这个上皮区域，一些研究人员（Christ and Ordahl 1995；Christ et al. 2007）偏好保留生皮肌节（或中央生皮肌节）这个术语。很快，体节的这一部分也进行上皮到间充质转换。来自生肌节的成纤维细胞生长因子信号在中央生皮肌节细胞中激活 *Snail2* 基因的转录，而 Snail2 蛋白是上皮到间充质转换的重要调节物（见图 15.9；Delfini et al. 2009）。在上皮到间充质转换期间，上皮细胞的有丝分裂纺锤体被重新排列，因此细胞沿背 - 腹轴进行分裂。腹侧的子细胞加入到生肌节的其他成肌细胞，而另一个子细胞位于背部，变成真皮的前体。类似于生骨节中上皮到间充质转换的进程，将这些细胞维持在一起的神经钙黏素被下调，两个子细胞分道扬镳，这时的神经钙黏素仅表达在进入生肌节的细胞（Ben-Yair and Kalcheim 2005）。

从上皮板分层出来而加入到初级生肌节细胞的那些肌前体细胞维持未分化的状态，它们迅速增殖而产生大部分成肌细胞。虽然大多数这些祖细胞分化形成肌肉，但是其中一部分保持未分化的状态并围绕着成熟的肌细胞。这些未分化的细胞变成骨骼肌干细胞，称为**卫星细胞**（**satellite cell**），它们参与出生后的肌肉生长和肌肉修复。

17.5.1 中央生皮肌节的决定

中央生皮肌节产生肌前体细胞及背部皮肤的真皮细胞。躯体腹部和侧部的真皮来自形成体壁的侧板

[6] 如这里所用，近轴（*primaxial*）和远轴（*abaxial*）的术语分别表示体节内侧和外侧部分的肌肉。轴上（*epaxial*）和轴下（*hypaxial*）这两个术语也很常用，但这些术语源自成体解剖学的再次演化（轴下肌受脊髓腹部区域的神经支配），而不是源自体节的生肌节谱系（见 Nowicki 2003）。

中胚层。中央生皮肌节的维持依赖于来自表皮的 Wnt6（Christ et al. 2007），它的上皮到间充质转换似乎受控于神经管分泌的神经营养因子 -3 和 Wnt1（见图 17.21）。阻断神经营养因子 -3 活性的抗体抑制上皮性的生皮节转换成在表皮下迁移的松散真皮间充质（Brill et al. 1995）。去除或旋转神经管阻止真皮的形成（Takahashi et al. 1992；Olivera-Martinez et al. 2002）。来自表皮的 Wnt 信号促进那些向背部迁移的中央生皮肌节细胞分化成真皮（Atit et al. 2006）。

然而，肌前体细胞和真皮细胞并不是中央生皮肌节的全部衍生物。Atit 及其同事（2006）证明，**棕色脂肪细胞**（**brown adipose cell**），即棕脂肪，也源自体节，并且似乎来自中央生皮肌节。棕脂肪通过消耗脂肪对能量利用有活跃的作用（不同于人们更熟悉的白色脂肪组织，即存储脂肪的“白脂肪”）。Tseng 及其同事（2008）发现，骨骼肌和棕脂肪细胞都来自最初表达生肌调节因子的同一体节前体。在棕脂肪前体细胞中，转录因子 PRDM16 被诱导（很可能是通过骨形态发生蛋白 -7）；PRDM16 似乎对于成肌细胞向棕脂肪细胞的转换非常关键，因为它激活众多特异性调节棕脂肪细胞中脂肪燃烧代谢的基因（Kajimura et al. 2009）。

17.5.2　生肌节的决定

除了头部的肌肉，脊椎动物躯体所有的骨骼肌都来源于体节的生皮肌节。生肌节从生皮肌节的侧缘或侧“唇”形成，在更外围的生皮肌节和更内部的生骨节之间折叠形成一层细胞。与肌细胞发育相关（并引起肌细胞发育）的主要转录因子是**成肌调节因子**（**myogenic regulatory factor**，**MRF**），有时被称为生肌性碱性螺旋 - 环 - 螺旋蛋白。这个转录因子家族包括成肌分化因子（MyoD）、成肌因子 -5（Myf5）、成肌蛋白（myogenin）和肌调节因子 -4（MRF4）。这个家族的每个成员都能激活其他成员的基因（**图 17.27**），产生很强的正反馈调节，以至于一个成肌调节因子在体内几乎任何一个细胞中的激活都会将这个细胞转变为肌细胞[7]。

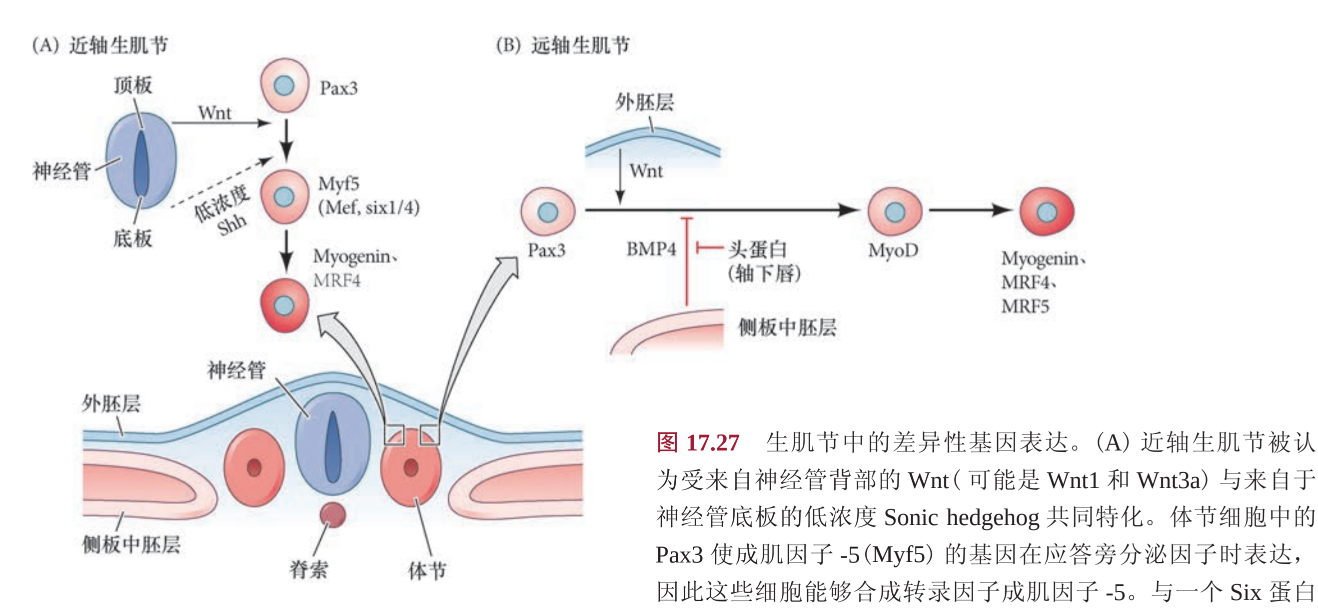


图 17.27　生肌节中的差异性基因表达。（A）近轴生肌节被认为受来自神经管背部的 Wnt（可能是 Wnt1 和 Wnt3a）与来自于神经管底板的低浓度 Sonic hedgehog 共同特化。体节细胞中的 Pax3 使成肌因子 -5（Myf5）的基因在应答旁分泌因子时表达，因此这些细胞能够合成转录因子成肌因子 -5。与一个 Six 蛋白及肌细胞增强因子 -2（Mef2）共同作用，成肌因子 -5 激活一些基因，这些基因进而激活成肌蛋白（Myogenin）和肌调节因子 -4（MRF4）的基因。（B）那些特异性地迁移到体节唇的细胞产生头蛋白，抑制骨形态发生蛋白 -4（BMP4）。在没有骨形态发生蛋白 -4 的情况下，来自表皮的 Wnt 蛋白诱导远轴生肌节的形成。MyoD：成肌分化因子（参考 Punch et al. 2009）。

---

[7] 像美国的宪法一样，发育的一般规则是强大的实体必须受到强有力的调控。由于它们具有将任何细胞转变为肌细胞的能力，成肌调节因子是基因组中受到最强有力调控的实体。它们在转录、加工、翻译和翻译后修饰的多个水平上都受到调控（见 Sartorelli and Juan 2011；Ling et al. 2012）。

成肌调节因子结合并激活一些对肌细胞功能至关重要的基因。例如，成肌分化因子似乎通过结合肌细胞特异性肌酸激酶（肌酸磷酸激酶）基因上游的 DNA 而直接使其激活（Lassar et al. 1989）。编码鸡的肌细胞乙酰胆碱受体的一个亚基的基因附近至少有两个成肌分化因子的 DNA 结合位点（Piette et al. 1990）。成肌分化因子也可直接激活自身的基因。因此，一旦成肌分化因子的基因被激活，其蛋白质产物与自身基因上游的 DNA 结合，维持这个基因的活跃表达。很多成肌调节因子只有与肌细胞增强因子 -2（Mef2）蛋白家族的肌特异性辅因子结合时才具有活性。成肌分化因子能激活肌细胞增强因子 -2 的基因，从而调节肌细胞基因表达的不同顺序。

如上所述，至少有两种不同的信号在体节的两个不同位置诱导生肌节（见 Punch et al. 2009）。使用移植和基因敲除小鼠的研究表明，来自体节内侧部分的近轴成肌细胞受来自神经管的一些因子诱导，可能是来自神经管背部区域的 Wnt1 和 Wnt3a，以及来自神经管底板的低水平 Sonic hedgehog（见图 17.21；Münsterberg et al. 1995；Stern et al. 1995；Borycki et al. 2000）。这些因子诱导体节中表达 Pax3 的细胞在近轴生肌节中激活成肌因子 -5 的基因。成肌因子 -5（与肌细胞增强因子 -2 及 Six1 或 Six4 共同作用）激活成肌蛋白和肌调节因子 -4 的基因，这些基因编码的蛋白质进而激活肌特异性基因调节网络（见图 17.27A；Buckingham et al. 2006）。近轴生肌节的细胞最初似乎被生皮肌节和生肌节周围的层粘连蛋白细胞外基质所限定。但随着成肌细胞的成熟，这个基质被消除，近轴成肌细胞沿着纤连蛋白索迁移。最终，它们进行排列、融合、延伸，变成背部的深层肌，连接发育中的椎骨和肋骨（Deries et al. 2010，2012）。

形成四肢和腹部体壁的肌肉的远轴成肌细胞来自体节的侧缘。这些肌前体细胞的产生似乎需要两个条件：① Wnt 信号的存在；②骨形态发生蛋白的不存在（见图 17.27B；Marcelle et al. 1997；Reshef et al. 1998）。Wnt 蛋白（特别是 Wnt7a）由表皮产生（见图 17.23；Cossu et al. 1996a；Pourquié et al. 1996；Dietrich et al. 1998），而相邻的侧板中胚层所产生的骨形态发生蛋白 -4 通常阻止肌细胞的形成。

那么，是什么在抑制骨形态发生蛋白的活性？在鸡胚胎中的一些研究发现，生皮肌节的背内侧唇和腹外侧唇的唇端上附有一些分泌骨形态发生蛋白抑制物（头蛋白）的细胞（Gerhart et al. 2006，2011）。这些分泌头蛋白的细胞来自胚泡，变成上胚层的一部分，并且通过表达成肌分化因子的 mRNA 但不将这个 mRNA 翻译成蛋白质而有别于其他细胞。这些特殊的细胞通过迁移而变成轴旁中胚层，特异地排布在生皮肌节的背内侧唇和腹外侧唇。它们在那里合成和分泌头蛋白，从而促进成肌细胞的分化。如果去除上胚层的头蛋白分泌细胞，整个躯体的骨骼肌就会减少，并且腹体壁变得极为薄弱以至于心脏和腹部器官经常从中突出而形成疝（图 17.28）。在缺失头蛋白分泌细胞的体节中植入释放头蛋白的珠子能预防这种缺陷。一旦骨形态发生蛋白被抑制，Wnt7 便能在具有应答能力的生皮肌节细胞中诱导成肌分化因子的表达，

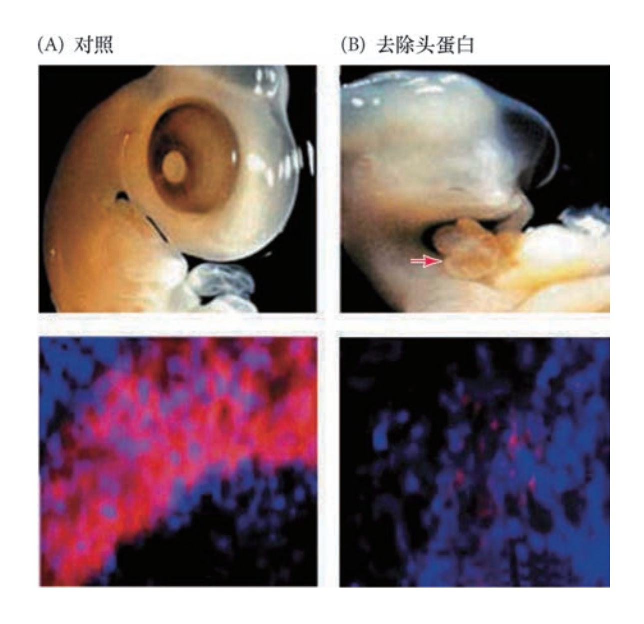


图 17.28　去除分泌头蛋白的上胚层细胞导致严重的肌肉缺陷。使用 G8 的抗体在第 2 期的鸡胚胎中去除分泌头蛋白的上胚层细胞。(A) 对照胚胎具有正常的形态（上图），肌细胞中有大量的肌球蛋白染色（下图，红色）。(B) 分泌头蛋白的上胚层细胞被去除的胚胎呈现出严重的眼部缺陷、严重的骨骼肌减少，以及进入薄层腹壁而形成的腹部脏器疝（上图，箭所示）。这些胚胎的特征是肌肉组织严重减少（下图中稀疏的肌球蛋白染色）（来自 Gerhart　et al. 2006，由 J. Gerhart 和 M. George-Weinstein 提供）。

成肌分化因子进而激活一系列产生肌前体细胞的肌调节因子蛋白。

17.5.3　神经嵴调节肌生成的一个新模型

生皮肌节的背内侧唇和腹外侧唇（DML 和 VLL）均被认为是自我延续的“细胞生长引擎”，能够进行自我更新和产生分化的肌细胞（Denetclaw and Ordahl 2000；Ordahl et al. 2001）。是什么在背内侧唇中调节哪些细胞将采取自我更新的命运，哪些细胞将成熟为肌细胞？我们已经描述了一系列来自神经管、表面外胚层和脊索并能影响肌生成的旁分泌因子；然而，背内侧唇中的细胞似乎以高度嵌合和随机的方式进入肌肉发育（Hirst and Marcelle 2015）。尽管这是短暂的，但另一个潜在的信号源可能是直接经过腹外侧唇附近的神经嵴细胞迁移群体（也见第 15 章）。

拓展性问题

一些重要信号为什么不使用一个信使以便进行长距离传递？是什么分子机制能够决定哪些神经嵴细胞在正确的时间以正确的呈递形式表达这些信号？这些问题的答案目前尚不清楚。神经嵴细胞很可能不是唯一的迁移性细胞，携带“紧俏”货物穿过分隔胚胎的各种边界。体节的内侧是神经嵴细胞、生骨节、寻径轴突及其他间充质之间杂乱无章的交织。我们可以假定，它们都有可能过渡性地表达一些对邻近组织及其他迁徙过路者都很重要的信息。

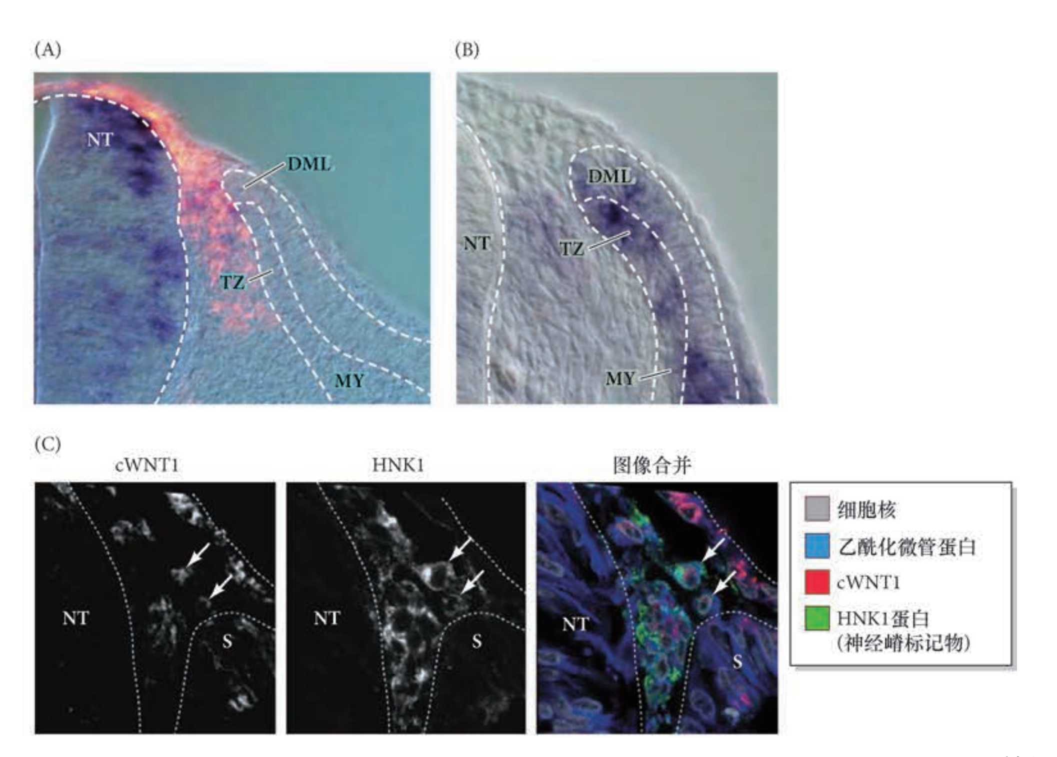
与背内侧唇中肌细胞的嵌合式成熟相一致的是 Notch 信号途径也在肌祖细胞中被激活。在背内侧唇的顶端，一些细胞开始表达 *Notch1*、*Hes1* 和 *lunatic fringe* 基因（以及其他基因），这些细胞发育成生肌节的肌纤维。Christophe Marcelle 的研究组表明，一个零星的迁移性神经嵴细胞表达 Delta1 并在背内侧唇处直接接触含有 Notch 的细胞膜，这通常是通过延伸的丝足（**图 17.29A，B**）。去除神经嵴细胞或神经嵴中 Delta1 的功能缺失使生肌节严重减少，而仅在神经嵴中升高 Delta1 的表达足以诱导生皮肌节中成肌因子 -5 的基因高度表达和扩张肌生成（Rios et al. 2011）。

观察发育 17.3　Christophe Marcelle 博士及其同事的实验室的视频，展示神经嵴细胞在背内侧唇和神经管之间迁移时，来自背内侧唇的丝足的惊人动态延伸，说明这两种细胞类型之间存在直接但短暂的细胞间接触。

Rios 及其同事（2011）将这种神经嵴信号传递的方式称为“吻与跑”，因为这可能代表一种更为广泛的信号传播机制。事实上，向腹部迁移的神经嵴细胞也携带 Wnt1（**图 17.29C**），我们在前面描述过这个蛋白质对肌生成有重要作用，并且由背部神经管提供。这些神经嵴细胞需要磷脂酰肌醇蛋白聚糖 -4（硫酸肝素蛋白多糖）以结合 Wnt1，并在路过时将 Wnt1 呈递给背内侧唇，这样就根据迁移的速度建立了一个 Wnt1 蛋白的梯度（**图 17.29D**）。来自神经嵴的 Wnt1 对生皮肌节中 Wnt11 的上调和生肌节的正确组织化是必需的（Serralbo and Marcelle 2014）。最后，在神经嵴细胞迁移通过生骨节时，它们分泌神经调节蛋白 -1，这是一个防止成肌细胞过早分化为肌细胞的旁分泌因子，有助于维持成肌祖细胞的储备（Ho et al. 2011）。因此，就像一只蜜蜂沿着它的旅途不经意地将花粉带给花朵，一个神经嵴细胞为整个体节中的细胞提供形态发生信号，影响它们的分化和生长。

17.6　骨发生：骨的发育

骨骼来自三种不同的谱系。轴旁中胚层产生椎骨和颅面骨，侧板中胚层产生四肢骨骼，颅神经嵴产生部分颅面骨和软骨。有两种主要方式的骨形成或**骨发生**（**osteogenesis**），两者都涉及已有的间充质组织向骨组织的转化。间充质向骨的直接转化称为膜内成骨，这在第 11 章已经讨论过。在其他情况下，间充质细胞分化成软骨，然后软骨在一个称为**软骨内成骨**（**endochondral ossification**）的过程中被骨替代。



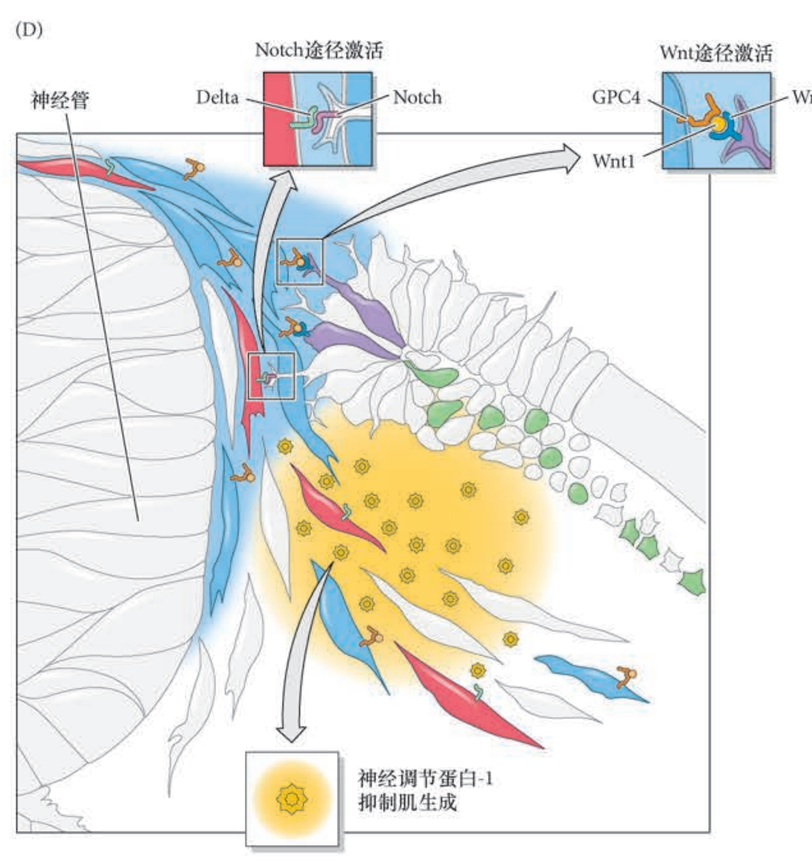


图 17.29 神经嵴细胞携带生肌节成熟的信息。(A) HNK1 阳性神经嵴细胞（红色）表达 *Delta1*（蓝色）。(B) 背内侧唇 (DML) 和成熟的生肌节 (My) 细胞表达 Notch 的下游靶基因 *Hes1*（蓝色）。(C) 双荧光分析显示神经嵴细胞表达 WNT1（箭显示 Wnt1 在神经嵴细胞中定位的两个例子）。这些横切面只显示了鸡躯干的一部分 (NT，神经管；S，体节；TZ，过渡带)。(D) 神经嵴细胞与背内侧唇生肌前体之间通过 Notch-Delta 和 Wnt 信号进行短暂相互作用的模型。背内侧唇细胞沿迁移性神经嵴细胞的整个路径向生皮肌节周围延伸长的丝足。不同的神经嵴细胞用不同的颜色表示以区分表达 Wnt1（蓝色）和表达 Delta（红色）的神经嵴细胞。此外，神经嵴细胞还分泌神经调节蛋白 -1（金色），防止成肌细胞（绿色细胞）从背内侧唇祖细胞（紫色细胞）中过早分化。GPC4：硫酸酰肌醇蛋白聚糖 -4 (A 图和 B 图来自 Rios et al. 2011；C 图由 Olivier Serralbo 和 Christophe Marcelle 提供）。

17.6.1 软骨内成骨

软骨内成骨涉及间充质细胞聚集形成软骨组织和软骨组织随后被骨替代 (Horton 1990)。这种类型的骨发生是椎骨、肋骨和肢骨的特征。椎骨和肋骨由体节形成，而肢骨由侧板中胚层形成（见第 19 章）。软骨内成骨可被分为五个阶段：定型、致密、增殖、生长，以及最后的软骨细胞死亡和新骨的产生。

阶段 1 和 2：定型和致密 首先，间充质细胞被定型为软骨（图 17.30A）。这种定型受 Sonic hedgehog 的刺激，它诱导附近的生骨节细胞表达 Pax1 转录因子（Johnson et al. 1994；Teissier-Lavigne 1994）。Pax1 启动一个依赖于外部旁分泌因子和内在转录因子的级联反应。

在软骨内成骨的第 2 阶段，定型的间充质细胞密集成致密的结节（图 17.30B）。内部的细胞被定型产生软骨，而外围的细胞被定型变成骨。骨形态发生蛋白在这个阶段似乎很关键。它们参与诱导黏附分子神经钙黏素和神经细胞黏附分子及转录因子 Sox9。神经钙黏素似乎对起始这些密集有很重要的作用，而神经细胞黏附分子对维持这些致密有关键作用（Oberlender and Tuan 1994；Hall and Miyake 1995）。Sox9 激活其他转录因子及一系列基因，其中包括编码 II 型胶原蛋白和聚集蛋白聚糖的基因，这些基因对软骨功能是必需的。在人类，*SOX9* 基因的突变引起屈肢骨发育不良，这是一种罕见的骨骼发育障碍，导致身体的大部分骨骼畸形。由于气管和肋骨软骨形成不良，大多数受影响的婴儿死于呼吸衰竭（Wright et al. 1995）。

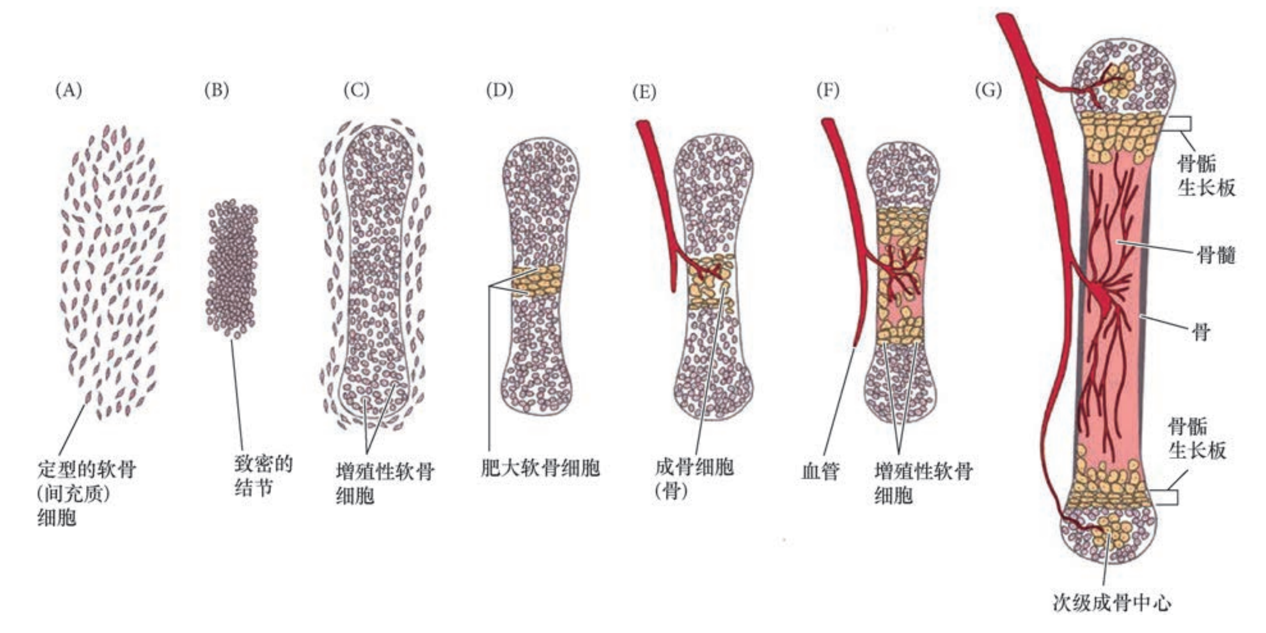
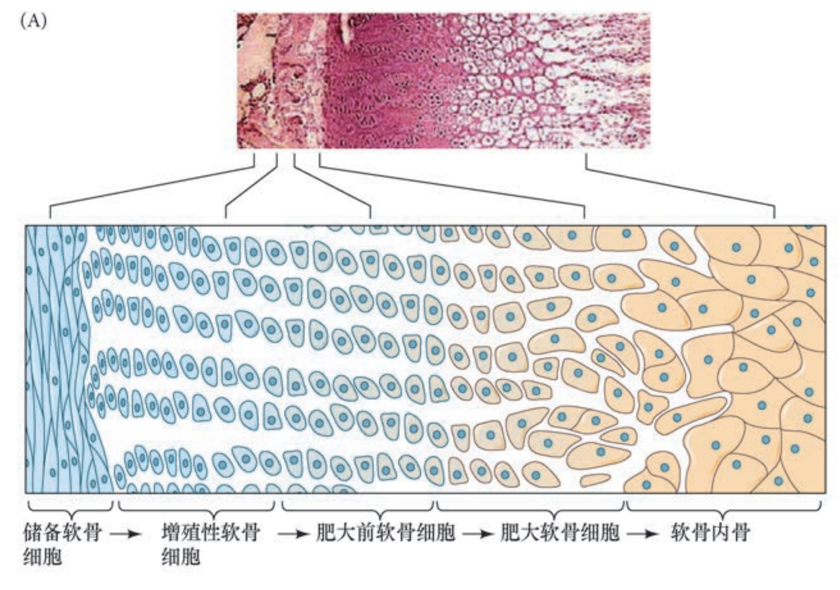


图 17.30 软骨内成骨示意图。(A) 间充质细胞被定型为软骨细胞。(B) 定型的间充质细胞通过密集，形成致密的结节。(C) 结节分化为软骨细胞并增殖形成骨的软骨模型。(D) 软骨细胞经历肥大和凋亡，同时改变和矿化它们的细胞外基质。(E) 软骨细胞的凋亡使血管侵入。(F) 血管带入成骨细胞，而成骨细胞结合退化的软骨基质并沉积骨基质。(G) 骨形成和生长包括一系列有序的增殖性、肥大性和矿化性软骨细胞。随着血管进入骨的顶端附近，次级成骨中心也开始形成（参考自 Horton 1990）。

阶段 3 和 4：增殖和生长 在软骨内成骨的第 3 阶段，软骨细胞快速增殖以形成骨的软骨模型（图 17.30C）。在分裂时，软骨细胞分泌一个软骨特异性的细胞外基质。最外层的细胞变成包裹软骨的**软骨膜**（**perichondrium**）。

在第 4 阶段，软骨细胞停止分裂并急剧增加体积（图 17.30D 和图 17.31），变成**肥大软骨细胞**（**hypertrophic chondrocyte**）。这一步似乎受转录因子 Runx2（也称为核心结合因子 -α1）介导，这个因子对膜内骨和软骨内骨的发育都是必需的。Runx2 的表达受控于组蛋白脱乙酰酶 -4（仅在肥大前软骨表达的染色质重组酶）。如果在软骨性肋骨或肢骨中高表达组蛋白脱乙酰酶 -4，骨化就会严重延迟；如果从小鼠的基因组中敲除组蛋白脱乙酰酶 -4 的基因，则肢骨和肋骨就会过早地骨化（Vega et al. 2004）。肥大软骨对于调节长骨的最终大小特别重要。的确，肥大软骨的相对大小在哺乳动物中对生长速度的贡献最大（Cooper et al. 2013）。这种软骨的膨胀不但决定每个骨元件的延伸速度，也调节同一生物体中不同骨元件之间（如手相对于腿）及相关生物体之间（小鼠的腿相对于跳鼠的腿）生长速度的差异。

这些大的软骨细胞改变它们产生的基质（通过添加胶原蛋白 -X 和更多的纤连蛋白），使其能够被



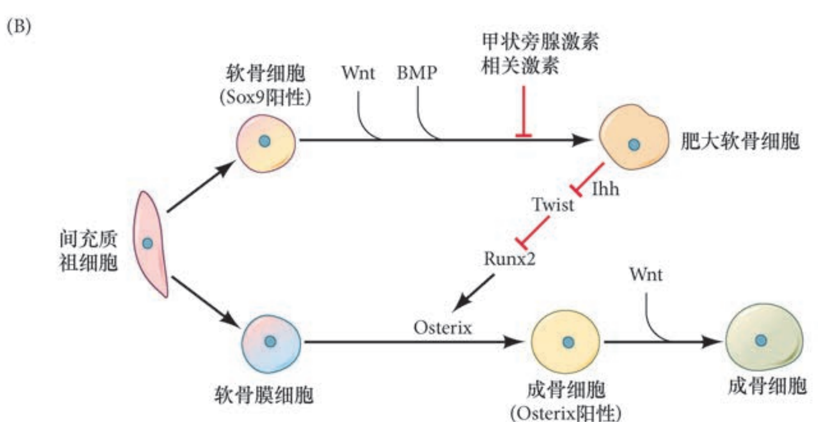


图 17.31　软骨内成骨。(A) 经历软骨内成骨的长骨。软骨被阿尔辛蓝染色，骨被茜素红染色。下部是过渡带的一个示意图，在这个过渡带中软骨细胞分裂、变大、死亡并被骨细胞（成熟的骨细胞）所取代。(B) 在软骨向骨的过渡过程中发挥作用的旁分泌因子和转录因子。间充质性的生骨节细胞能变成一个软骨细胞（表达转录因子 Sox9）或一个骨细胞（表达成骨细胞特异性转录因子 Osterix），取决于它所接触的旁分泌因子类型。生长中的软骨细胞所分泌的旁分泌因子 Indian hedgehog (Ihh) 似乎抑制 Twist (Runx2 的抑制物)。Runx2 对细胞命运向骨途径的发育至关重要；它激活 Osterix，后者转而激活一些骨特异性蛋白。BMP：骨形态发生蛋白（参考 Long 2012）。

磷酸钙矿化（钙化）。这些肥大软骨细胞也分泌两种对软骨转化为骨至关重要的因子。第一，它们分泌新血管发生因子——**血管内皮生长因子**（**vascular endothelial growth factor，VEGF**），这个因子能将中胚层间充质细胞转变成血管（见第 18 章；Gerber et al. 1999；Haigh et al. 2000）。第二，它们分泌 Indian hedgehog，这是 Hedgehog 家族的一个成员和 Sonic Hedgehog 的一个近亲，它在软骨原基周围的软骨膜细胞中激活 *Runx2* 的转录。这一步使得这些细胞开始向形成骨的成骨细胞分化。缺失 *Indian hedgehog* 基因的小鼠完全没有软骨内骨骼（躯干和肢）的成骨细胞，尽管在头和面部通过膜内成骨产生的成骨细胞能够正常形成（St-Jacques et al. 1999）。

阶段 5：软骨细胞死亡和骨细胞生成　在第 5 阶段，肥大软骨细胞通过细胞凋亡而死亡（Hatori et al. 1995；Rajpurohit et al. 1999）。肥大软骨从内到外均被骨细胞取代，并且血管侵入软骨模型（**图 17.30E ～ G**）。在外部，成骨细胞开始形成骨基质，围绕钙化和部分降解的软骨基质构建一个骨领（Bruder and Caplan 1989；Hatori et al. 1995；St-Jacques et al. 1999）。成骨细胞能够对上调 Osterix 的 Wnt 信号产生应答，而 Osterix 是一个指令成骨细胞变为成熟骨细胞或**骨细胞**（**osteocyte**）的转录因子（Nakashima et al. 2002；Hu et al. 2005）。

新骨质从**骨膜**（**periosteum**）的内表面被添加在外围。骨膜是覆盖在发育的骨周围的一个纤维鞘，它含有结缔组织、毛细血管和骨祖细胞（Long et al. 2012）。同时，骨的内部区域出现空洞，形成骨髓腔。软骨细胞在死亡过程中改变细胞外基质，释放血管内皮生长因子，这个因子在死亡中的软骨周围刺激血管的形成。如果血管的形成被抑制，骨的发育就会明显延迟（Karsenty and Wagner 2002；Yin et al. 2002）。血管既带入成骨细胞也带入**破骨细胞**（**osteoclast**），后者是吞噬凋亡软骨细胞碎片的多核细胞，从而形成

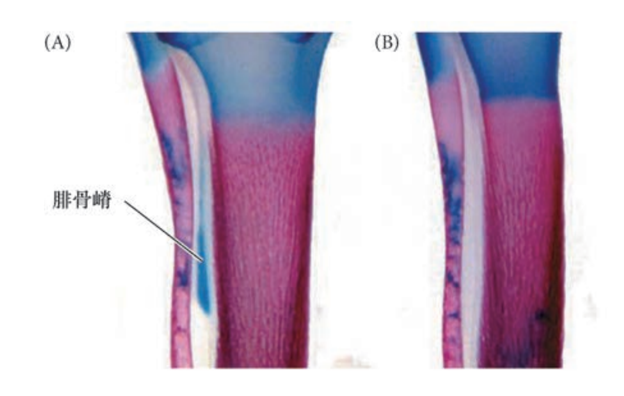
中空的骨髓腔（Kahn and Simmons 1975；Manolagas and Jilka 1995）。破骨细胞并不来自体节；相反，它们来源于一个血细胞谱系（位于侧板中胚层），与巨噬血细胞有共同的前体（Ash et al. 1980；Blair et al. 1986）。

17.6.2　机械力转导与脊椎动物骨发育

细胞感知它们的环境并将机械力转变成分子信号的能力被称为机械力转导，它对于发育的重要性才刚开始受到人们的重视。我们在讨论细胞外机械信号如何改变干细胞的分化时已经看到了这个重要性，并且机械力似乎在骨、肌肉和腱的形成中有重要作用，也许对这些组织在成体中的修复和再生也很重要。然而，人们对机械应力如何被感知、量化和作为细胞质中化学物质的一种变化而被传递还知之甚少。

脊椎动物骨的发育显示出一些对机械力转导的依赖性。张力和应力激活 *Indian hedgehog*（*Ihh*）基因的表达，Indian hedgehog 是一个激活骨形态发生蛋白的旁分泌因子（Wu et al. 2001）。在鸡中，如果胚胎运动在卵壳内受到抑制，多个骨骼便不能形成。其中之一是腓骨嵴，它直接将胫骨连接到腓骨（**图 17.32A，B**）。这种直接连接被认为在鸟类进化中有重要作用，并且腓骨嵴是鸟类后肢的一个普遍特征（Müllerand Steicher 1989；Müller 2003）。

丽鱼的颌骨存在很大的差异，取决于它们所吃的食物（**图 17.32C**；Meyer 1987）。同样，灵长类颌骨的正常发育可以根据它们嚼碎食物时产生的张力来预测：机械张力似乎能刺激 *Indian hedgehog* 基因在哺乳动物下颌软骨中的表达（Tang et al. 2004）。如果给予一只幼猴软食物，那么它的下颌就会变小。Corruccini 和 Beecher（1982，1984）及 Varrela（1992）证明，在婴幼儿主要食用硬食物的一些文化中，人们的上下颌“磨合”得更好。这些研究人员推测，柔软的婴儿食品可以解释为什么西方社会有众多的儿童需要牙箍。的确，机械张力能改变颌的大小和形状这个概念是现代口腔正畸学功能假说的基础（Moss 1962，1997）。



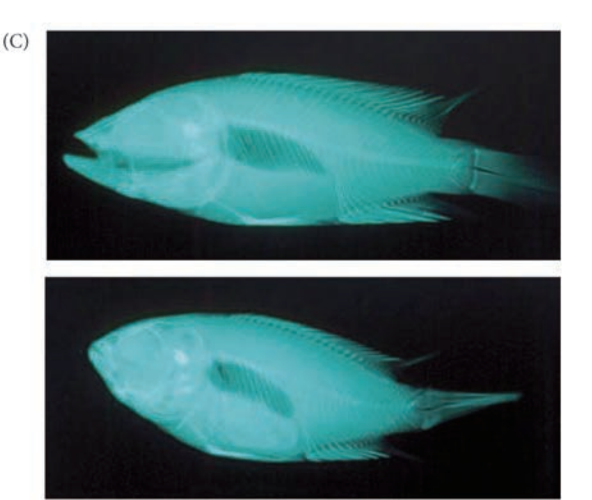


图 17.32　肌肉和骨骼组织上的应力能产生一些表型。（A，B）鸟类的腓骨嵴（胫腓连结）将胫骨直接连接到腓骨。腓骨嵴是卵内活跃的胚胎运动对胫骨产生物理性应力而形成的。（A）腓骨嵴在第 13 天鸡胚胎结缔组织中正在形成。（B）在运动受到抑制的第 13 天胚胎结缔组织中没有腓骨嵴。蓝色染料染软骨；红色染料染骨成分。（C）丽鱼颌的形状受它们的食物硬度所决定。不同的食物产生不同的颌结构（A 图和 B 图来自 Müller 2003，由 G. Müller 提供；C 图来自 Meyer 1987，由 A. Meyer 提供）。

在哺乳动物中，胚胎内部的肌肉力量对于骨的正常成形和负荷能力的发育有至关重要的作用（Sharir et al. 2011）。在出生后，髌骨（膝盖骨）是因为对骨骼的压力而形成的，在大脑性瘫痪的患者中出现的异常骨骼发育被认为是由于这些骨骼没有受到压力而引起的（Shefelbine and Carter 2004；Ward et al. 2006）。

网络话题 17.2　**旁分泌因子、它们的受体及人类骨骼的生长**　编码一些旁分泌因子及其受体的基因的突

变在人类和小鼠中引起众多的骨骼异常。

17.7 肌肉的成熟

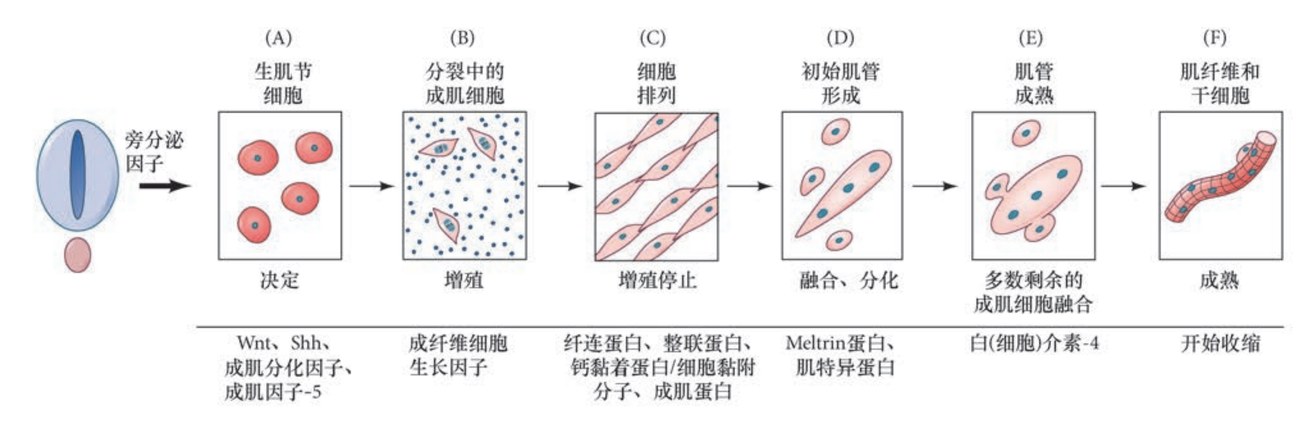
17.7.1 成肌细胞和肌纤维

产生成肌调节因子的细胞是成肌细胞，这是一些定型的肌细胞前体，但与身体的大多数细胞不同，肌细胞不能作为“个体”发挥功能。相反，多个成肌细胞排列在一起并融合它们的细胞膜而形成一个**肌纤维**（**myofiber**），这是一个具有肌肉组织特征的多核大细胞（Konigsberg 1963；Mintz and Baker 1967；Richardson et al. 2008）。成体中的肌纤维有可能来自单核细胞参与的数千次融合事件。对小鼠胚胎的研究表明，小鼠在出生时已经具有成体数量的肌纤维，这些多核的肌纤维在出生后第一周通过单核成肌细胞的融合而生长（Ontell et al. 1988；Abmayr and Pavlath 2012）。在第一周之后，肌细胞将肌干细胞（卫星细胞，稍后讨论）融合到已有的肌纤维中，以及在肌纤维中增加收缩性蛋白而能继续生长。

成肌细胞融合 融合的第一步需要成肌细胞退出细胞周期，这涉及周期蛋白 D3 的表达（Gurung and Pamaik 2012）。然后，成肌细胞向它们的细胞外基质分泌纤连蛋白及其他蛋白质，并通过这些细胞外基质组分的主要受体整联蛋白 -α5β1 与细胞外基质结合（Menko and Boettiger 1987；Boettiger et al. 1995；Sunadome et al. 2011）。如果用实验方法阻断这种黏附，就没有进一步的肌细胞发育；因此，来自整联蛋白 - 纤连蛋白附着的信号对于指令成肌细胞分化为肌细胞似乎有关键作用（图 17.33）。

第三步是成肌细胞排列成链。这一步受细胞膜糖蛋白介导，包括多种钙黏着蛋白（Knudsen 1985；Knudsen et al. 1990）。只有细胞变为成肌细胞时才能发生细胞之间的识别和排列。甚至是鸡和大鼠之间的成肌细胞在体外培养时也能发生融合（Yaffe and Feldman 1965），因此，物种的特征并不重要。内部的细胞质重新排列以准备融合，使肌动蛋白调节细胞之间相接触的区域（Duan and Gallagher 2009）。

第四步就是细胞融合事件本身。与多数膜融合一样，钙离子有关键的作用，并且融合能被一些携



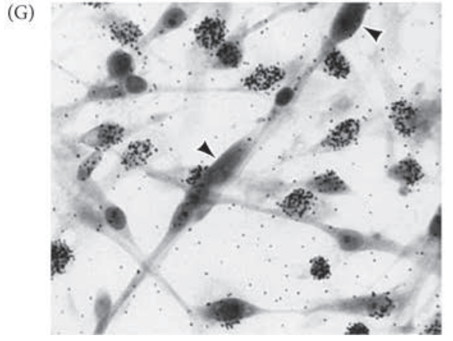


图 17.33 成肌细胞在体外转变成肌细胞。(A) 旁分泌因子对生肌节细胞的决定。(B) 定型的成肌细胞在一些生长因子（主要是成纤维细胞生长因子）的存在下进行分裂，但没有明显的肌特异性蛋白。(C ～ E) 当生长因子被耗尽时，成肌细胞停止分裂，进行排列并融合形成肌管。(F) 肌管组织形成自发性收缩的肌纤维。(G) 放射自显影显示成肌细胞中 DNA 的合成，以及融合中的细胞从细胞周期的退出。一些成肌细胞与其他成肌细胞排列之后，在它们的细胞膜融合之前，磷脂酶 C 能将这些细胞“冻结”。将培养的成肌细胞用磷脂酶 C 处理，然后使它们接触放射性胸苷。未附着的成肌细胞继续分裂，因此能将放射性胸苷整合到它们的 DNA。排列（但尚未融合）的细胞（箭头）不整合放射性标记（A ～ F 图参考 Wolpert 1998；G 图来自 Nameroff and Munar 1976，由 M. Nameroff 提供）。

带钙离子穿过细胞膜的钙转运体（如 A23187）所激活（Shainberg et al. 1969；David et al. 1981）。融合似乎受一组称为 **meltrin** 的金属蛋白酶所介导。这种蛋白质是在鉴别一些可能与致育蛋白（与精子和卵子的细胞膜融合密切相关的一个蛋白质）有同源性的成肌细胞蛋白时被发现的。Yagami-Hiromasa 及其同事（1995）发现，其中一个这样的蛋白质——meltrin-α，在开始融合的成肌细胞中表达，而 meltrin-α 信使的反义 RNA 能抑制成肌细胞的融合。在成肌细胞能够进行融合时，另一个成肌调节因子——**成肌蛋白**（**myogenin**），开始变得活跃。成肌蛋白结合多个肌细胞特异基因的调控区并激活它们的表达。因此，成肌分化因子和成肌因子 -5 在肌细胞的谱系特化中具有活性，而成肌蛋白似乎介导肌细胞的分化（Bergstrom and Tapscott 2001）。

细胞融合在新并置在一起的膜重新缝合（“愈合”）后便结束。这一步由一些能够稳定细胞膜上磷脂的蛋白质（如 myoferlin 和 dysferlin）完成（Doherty et al. 2005）。这些蛋白质与那些在膜囊泡融合而释放神经递质后重新缝合轴突神经突触处细胞膜的蛋白质很相似。

肌纤维的生长 在成肌细胞最初融合成一个肌纤维后，肌纤维便分泌旁分泌因子白细胞介素 -4。尽管最初认为白细胞介素 -4 只在成体的免疫系统中起作用，但 Horsely 及其同事（2003）发现，新的肌纤维所分泌的白细胞介素 -4 能招募其他成肌细胞与肌管融合，从而产生成熟的肌纤维（见图 17.3）。

胚胎中肌纤维的数目及这些纤维在出生后的生长似乎受**肌生成抑制蛋白**（**myostatin**）的负调节（McPherron et al. 1997; Lee 2004）。这是转化生长因子 -β 家族的成员之一，表达在发育中及成体中的骨骼肌，并且很可能以自分泌的方式起作用。如第 3 章所述（见图 3.26），肌生成抑制蛋白的功能缺失突变使得肌肉增生（更多的纤维）和肥大（更大的纤维）。这些变化在狗、牛、小鼠及人产生赫拉克勒斯（希腊神话中的“大力神”）的表型（**图 17.34**）。

网络话题 17.3 **肌肉形成** 在嵌合体小鼠中的研究表明骨骼肌通过细胞融合而变成多核，而心肌则通过细胞内的核分裂而变成多核。

17.7.2 卫星细胞：未融合的肌祖细胞

任何舞蹈演员、运动员或体育爱好者都知道：①成人的肌肉经过锻炼能长得更大；②受伤后肌肉能够进行有限的再生。肌细胞的生长和再生都源自**卫星细胞**（**satellite cell**），这是沿着成体肌纤维分布的干细胞和祖细胞群体。卫星细胞能对损伤或运动产生应答，通过增殖变为成肌细胞，然后融合形成新的肌纤维。利用鸡和鹌鹑嵌合体进行谱系追踪显示，卫星细胞源自体节中没有融合的成肌细胞，在成体的一



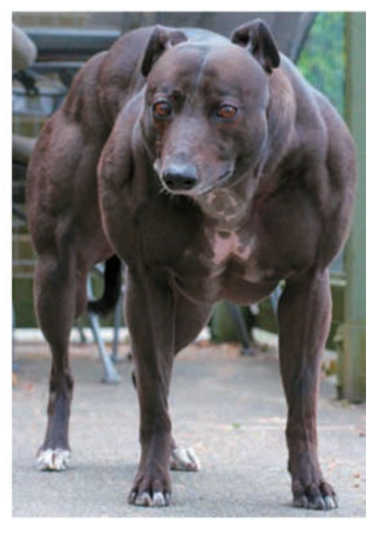
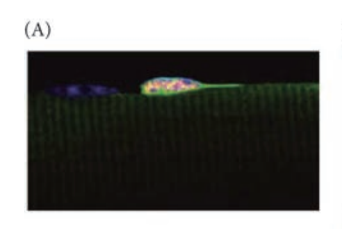


图 17.34 惠比特犬中肌生成抑制蛋白的基因功能缺失突变。(A) 惠比特犬是一种典型的苗条品种，因为速度快、适合赛狗而被繁殖出来。(B) 尽管纯合的功能缺失状态没有优势，但杂合子具有更多的肌肉力量，在顶级赛狗中的比例明显偏多（见 Mosher et al. 2007）(A 图为 kustudio/Shutterstock 版权所有；B 图为 Bruce Stotesbury/PostMedia News/Zuma Press 版权所有）。

生中保持形成肌纤维的潜能（Armand et al. 1983）。

小鼠和鸡的卫星细胞似乎来自生皮肌节的中央部分（Ben-Yair and Kalcheim 2005；Gros et al. 2005；Kassar-Duchossoy et al. 2005；Relaix et al. 2005）。尽管生皮肌节中产生成肌细胞的细胞在唇部形成并表达成肌因子 -5 和成肌分化因子，但从中央区域进入生肌节的细胞通常表达 Pax3 和 Pax7，以及一些微 RNA（miRNA-489 和 miRNA-31）。Pax3 和 Pax7 的组合似乎抑制成肌分化因子在这些细胞中的表达（及肌细胞的分化）；Pax7 还保护卫星细胞免于凋亡（Olguin and Olwin 2004；Kassar-Duchossoy et al. 2005；Buckingham et al. 2006）。这两种微 RNA 似乎能阻止一些促进肌细胞分化的因子（如成肌因子 -5）的翻译（Cheung et al. 2012；Crist et al. 2012）。

卫星细胞不是一个均质的群体；相反，它们含有干细胞和祖细胞。干细胞仅代表大约 10% 的卫星细胞，与其他卫星细胞共同位于成熟肌纤维的细胞膜和细胞外基底层之间。卫星干细胞表达 Pax7，但不表达成肌因子 -5（这被指定为 $Pax7^+/Myf5^-$），并且能进行非同步分裂以产生两种类型的细胞：另一个 $Pax7^+/Myf5^-$ 干细胞和一个分化为肌细胞的 $Pax7^+/Myf5^+$ 卫星祖细胞（图 17.35）。如果 $Pax7^+/Myf5^-$ 干细胞被移植到其他肌细胞，它们便会参与形成那里的干细胞群体（Kuang et al. 2007）。



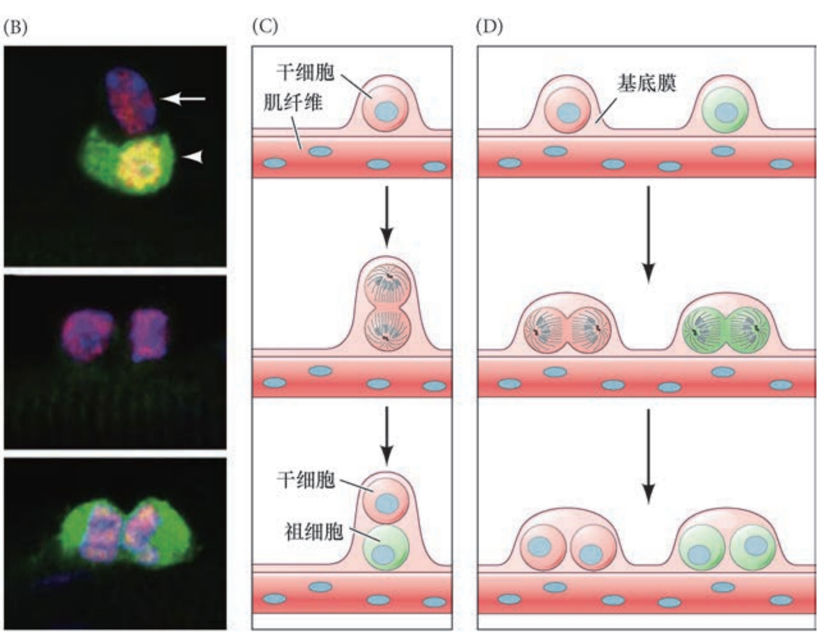


图 17.35 卫星细胞和肌细胞生长。(A) 卫星细胞（用 Pax7 蛋白的抗体染色）驻留在肌纤维细胞膜和基底膜之间。(B) 上部照片显示一个卫星干细胞的不对称分裂，以及保持 Pax7（干细胞；红色）的子细胞与下调 Pax7 并表达成肌因子 -5（祖细胞；绿色）的子细胞之间的区别，这对应 (C) 图中的示意图。在 (B) 图下部的两张照片显示对称分裂，干细胞和祖细胞分别形成更多的干细胞和祖细胞，如 (D) 图中的示意图所示（参考 Bentzinger et al. 2012；照片由 F. Bentzinger 和 M. A. Rudnicki 提供）。

调节这种不对称分裂的因子似乎是 miRNA-489，这个微 RNA 在休眠状态的干细胞中表达。在分裂时，miRNA-489 仍然在保持干细胞状态的子细胞中表达，但在将要成为肌细胞的那个子细胞中不再表达，它能抑制 Dek 信使在进行分化的子细胞中的翻译。Dek 蛋白是促进祖细胞短暂增殖的染色质蛋白（Cheung et al. 2012）。因此，miRNA-489 维持成体肌肉干细胞群体的静态。

17.7.3 肌肉骨骼系统中的机械力转导

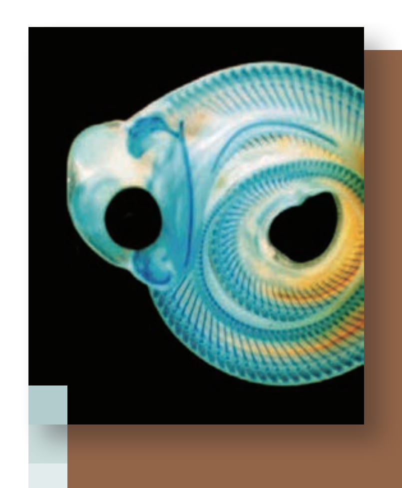
我们知道运动产生的物理力会使肌肉增大。运动能刺激肌细胞中的蛋白质合成，多核的肌纤维中每个细胞核的周围似乎都是一个蛋白质合成受到调节的区域（Lai et al. 2004；Quaisar et al. 2012）。如果物理应力一直持续，这种作用似乎能引起卫星细胞增殖并与已有的肌纤维融合。的确，耐力运动被证明能够增加老年人的卫星细胞数量（Shefer et al. 2010）。肌细胞自分泌的胰岛素样生长因子是引起肌肉生长的候选因子（Yang 1996；Goldspink 2004；Sculthorpe et al. 2012），但目前尚不清楚这个因子或其他因子是如何被压力诱导的。

同样，以一种尚不清楚的方式，负重载荷所产生的张力能在腱细胞中激活转化生长因子 -β2 和 β3 的

表达（Maeda et al. 2011）。的确，缺失这些基因的小鼠完全没有腱。转化生长因子 -β 途径（通过转录因子 Smad2/3 发挥作用）在初始的成纤维细胞生长因子信号之后继续激活转录因子 scleraxis 的基因；反过来，scleraxis 激活一些参与形成细胞外基质的基因。而且，发育中的腱细胞所产生的转化生长因子 -β 可以从软骨和肌细胞中募集一些细胞，在这三种组织之间建立连接（Blitz et al. 2009；Pryce et al. 2009）。

下一步的研究

中轴和轴旁中胚层及其衍生物的发育涉及多种信号途径、表观遗传调控、细胞形状变化、迁移细胞及经常存在的机械力之间的极其复杂的整合。目前，对于一个发育生物学家最具有挑战性的目标可能是设计一些能够探讨这些不同过程如何被整合起来的实验。例如，我们正在开始认识分节时钟、决定前沿和同源异形基因表达的调控如何相互作用以实现体节的形成和轴向的特征。一个已经给我们带来新视角的研究方法是数学建模，它使研究人员能够在理论上操纵一个看似无限的参数阵列，帮助确定复杂过程的可预测结果。你可以选择一个轴旁中胚层事件并鉴别出确定这个事件的所有参数：一个（些）细胞；随着时间推移细胞大小、形状、数目和位置的变化；一个特定的参数被改变时这个事件如何发生变化。现在你可以开始使用这些参数，通过计算机来“模拟”发育。





开篇图的思考

分节或体节的形成是一个受到高度调控的过程，决定一个生物体形成的体节是“何种”、在“何时”、在“何处”和“有多少”。Anne C. Burke 用阿尔新蓝染色制备了这个漂亮的乌梢蛇胚胎照片，展示了体节发生的宏伟本质。通过成纤维细胞生长因子 -8 决定前沿、Notch-Delta 分子时钟和肝配蛋白受体 - 肝配蛋白介导的边界形成的协调，轴旁中胚层的节段被雕刻成序贯的团块（由 Anne C. Burke 提供）。

17 要点总结

轴旁中胚层

1. 轴旁中胚层形成一些被称为体节的组织块。体节产生三个主要区域：生骨节、生肌节和中央生皮肌节。
2. 同源异形基因从 3′ 端到 5′ 端沿轴旁中胚层的时空表达与表观遗传调控的染色质结构逐步松散，以及沿前 - 后轴内移进入轴旁中胚层的时间相关。成纤维细胞生长因子和 Wnt 的尾部信号梯度将神经中胚层祖细胞维持在祖细胞状态，而反向的视黄酸梯度促进这些细胞的分化。这些拮抗信号在分节板中建立了一个新体节边界将要形成的位置。
3. 整个前体节中胚层中 Notch-Delta 信号的周期性激活建立分节形成的时间，肝配蛋白受体系统参与边界的物理形成。而且，神经钙黏素、纤连蛋白和 Rac1 对前体节中胚层细胞变成上皮性细胞似乎也很重要。
4. 生骨节形成椎软骨。在胸椎中，生骨节细胞也形成肋骨。椎关节、脑脊膜和背主动脉细胞也来自生骨节。
5. 近轴生肌节形成背部肌肉组织。远轴生肌节形成体壁、四肢、隔和舌的肌肉组织。
6. 中央生皮肌节形成背部的真皮，以及肌肉和棕脂肪细胞的前体。

7. 体节的区域受邻近组织分泌的旁分泌因子所特化。生骨节在很大程度上受脊索和神经管底板细胞分泌的 Sonic hedgehog 所特化。两个生肌节区域受不同的因子所特化，在这两种情况下，一些成肌调节因子在将要形成肌肉的细胞中被诱导。
8. 为了形成肌肉，成肌细胞停止分裂，自身排列成肌管并融合。肌管周围被称为卫星细胞的干细胞促进肌纤维的进一步生长。
9. 形成骨骼的主要谱系是体节（中轴骨骼）、侧板中胚层（附属器官）、神经嵴和头部中胚层（颅和面部）。
10. 有两种主要类型的骨发生。膜内成骨主要发生在颅骨和面部骨骼，神经嵴和头部间充质细胞被直接转变成骨。在软骨内成骨过程中，间充质细胞变成软骨。这些软骨模型在后来被骨细胞取代。
11. 肥大软骨细胞产生 Indian hedgehog（Ihh）和血管内皮生长因子。Ihh 起始成骨细胞向骨的分化，血管内皮生长因子诱导毛细血管的构建，这些毛细血管将骨细胞带入退化的软骨。
12. 在人的一生中，破骨细胞不断重塑骨骼。形成骨髓的骨空心化由破骨细胞完成。
13. 腱在生肌节分泌的成纤维细胞生长因子诱导下由生骨节最背层的细胞转变为生腱节而形成。

拓展阅读

Barrios, A., R. J. Poole, L. Durbin, C. Brennan, N. Holder and S. W. Wilson. 2003. Eph/Ephrin signaling regulates the mesenchymal-to-epithelial transition of the paraxial mesoderm during somite morphogenesis. *Curr. Biol.* 13: 1571–1582.

Bouldin, C. M., C. D. Snelson, G. H. Farr and D. Kimelman. 2014. Restricted expression of cdc25a in the tailbud is essential for formation of the zebrafish posterior body. *Genes Dev.* 28: 384–395.

Brent, A. E., R. Schweitzer and C. J. Tabin. 2003. A somitic compartment of tendon precursors. *Cell* 113: 235–248.

Cayuso, J., Q. Xu and D. G. Wilkinson. 2015. Mechanisms of boundary formation by Eph receptor and ephrin signaling. *Dev Biol.* 40: 122–131.

Chalamalasetty, R. B. and 5 others. 2014. Mesogenin 1 is a master regulator of paraxial presomitic mesoderm differentiation. *Development* 141: 4285–4297.

Choi, K. S. and B. D. Harfe. 2011. Hedgehog signaling is required for formation of the notochord sheath and patterning of nuclei pulposi within the intervertebral discs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 9484–9489.

Christ, B., R. Huang and M. Scaal. 2007. Amniote somite derivatives. *Dev. Dyn.* 236: 2382–2396.

Denans, N., T. Iimura and O. Pourquié. 2015. Hox genes control vertebrate body elongation by collinear Wnt repression. *Elife* 26: 4.

Dubrulle, J. and O. Pourquié. 2004. fgf8 mRNA decay establishes a gradient that couples axial elongation to patterning in the vertebrate embryo. *Nature* 427: 419–422.

Ellis, K., J. Bagwell and M. Bagnat. 2013. Notochord vacuoles are lysosome-related organelles that function in axis and spine morphogenesis. *J. Cell Biol.* 200: 667–679.

Gomez, C. and 5 others. 2008. Control of segment number in vertebrate embryos. *Nature* 454: 335–339.

Henrique D., E. Abranches, L. Verrier and K. G. Storey. 2015. Neuromesodermal progenitors and the making of the spinal cord. *Development* 142: 2864–2875.

Hubaud, A. and O. Pourquié. 2014. Signalling dynamics in vertebrate segmentation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15: 709–721.

Jülich, D. and 7 others. 2015. Cross-scale integrin regulation organizes ECM and tissue topology. *Dev. Cell* 34: 33–44.

Kumar, S. and G. Duester. 2014. Retinoic acid controls body axis extension by directly repressing Fgf8 transcription. *Development* 141: 2972–2977.

Mansfield, J. H., E. Haller, N. D. Holland, and A. E. Brent. 2015. Development of somites and their derivatives in amphioxus, and implications for the evolution of vertebrate somites. *Evodevo* May 14: 21.

Noordermeer, D. and 5 others. 2014. Temporal dynamics and developmental memory of 3D chromatin architecture at Hox gene loci. *Elife* Apr 29; 3:e02557. doi: 10.7554/eLife.02557.

Nowotschin, S., A. Ferrer-Vaquer, D. Concepcion, V. E. Papaioannou and A. K. Hadjantonakis. 2012. Interaction of Wnt3a, Msgn1 and Tbx6 in neural versus paraxial mesoderm lineage commitment and paraxial mesoderm differentiation in the mouse embryo. *Dev. Biol.* 367: 1–14.

Ordahl, C. P., E. Berdougo, S. J. Venters and W. F. J. Denetclaw. 2001. The dermomyotome dorsomedial lip drives growth and morphogenesis of both the primary myotome and dermomyotome epithelium. *Development* 128:1731–1744.

Rios, A. C., O. Serralbo, D. Salgado and C. Marcelle. 2011. Neural crest regulates myogenesis through the transient activation of NOTCH. *Nature* 473: 532–535.

Serralbo, O. and C. Marcelle. 2014. Migrating cells mediate long-range WNT signaling. *Development* 141: 2057–2063.

Wahi, K., M. S. Bochter and S. E. Cole. 2014. The many roles of Notch signaling during vertebrate somitogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* Dec 4. pii: S1084-9521(14)00320-6.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 18 章

居间中胚层和侧板中胚层

心脏、血液和肾

心脏是如何形成的？它怎样与动脉和静脉相连接？

中轴和轴旁中胚层形成背部的脊索和体节，而居间和侧板中胚层则环绕身体的两侧和前部延伸。**居间中胚层**（**intermediate mesoderm**）形成泌尿生殖系统，由肾、生殖腺，以及与它们相连的导管组成。肾上腺的外部（皮质）也来源于居间中胚层。离脊索最远的**侧板中胚层**（**lateral plate mesoderm**）形成心脏、血管、循环系统的血细胞，以及体腔内壁。它还形成骨盆和四肢的骨骼（但不包括四肢的肌肉，这些肌肉来源于体节）。此外，侧板中胚层也参与形成一系列对转运营养物质到胚胎内部很重要的胚外膜。

这四个分区被认为是沿内外轴（中心到两侧）受浓度递增的骨形态发生蛋白所特化（Pourquié et al. 1996；Tonegawa et al. 1997）。鸡胚胎更外侧的中胚层比中线区域的中胚层表达更多的骨形态发生蛋白 -4。因此，改变骨形态发生蛋白的表达可以改变中胚层组织的特征。虽然目前还不清楚这种图式是如何建立的，但人们认为不同浓度的骨形态发生蛋白能引起叉头框（Fox）家族转录因子的差异性表达。*Foxf1* 基因



要点

心脏、血管和肾是中胚层器官，负责向全身运送另一个中胚层组织，即血细胞。脊椎动物的肾发育自居间中胚层两个区域（中肾管和后肾间充质）的相互作用。这个相互作用使得间充质形成过滤血液的肾单位、收集管，以及向膀胱输送过滤液的输尿管。中胚层祖细胞形成初级心区，并向腹内侧迁移以形成一个线性的心管。来自咽中胚层的次级心区为这个线性的心管添加了大量细胞。由于不均匀的细胞增殖和物理力的作用，心管向右成环，并开始形成心室和心房。血管发生涉及脏壁中胚层细胞的密集而形成血岛，血岛的外层细胞变成内皮（血管）细胞。新血管发生是已有血管的重塑。血细胞发生，即血细胞的形成，涉及一个能够产生多种细胞类型的干细胞群体。

在那些将要变成侧板和胚外中胚层的区域被转录，而 *Foxc1* 和 *Foxc2* 基因则表达在将要形成体节的轴旁中胚层（Wilm et al. 2004）。如果从小鼠的基因组中删除 *Foxc1* 和 *Foxc2* 基因，轴旁中胚层将被重新转化成居间中胚层，并启动 *Pax2* 基因的表达。*Pax2* 基因编码居间中胚层的一个主要转录因子（图 18.1）。

这一章我们将重点阐述那些构建和循环血液的器官。与心脏和循环血液的大部分血管一样，血细胞由侧板中胚层产生。肾来源于居间中胚层，它过滤血液中的废弃物，还对血压、血液成分及血液体积有重要的影响。

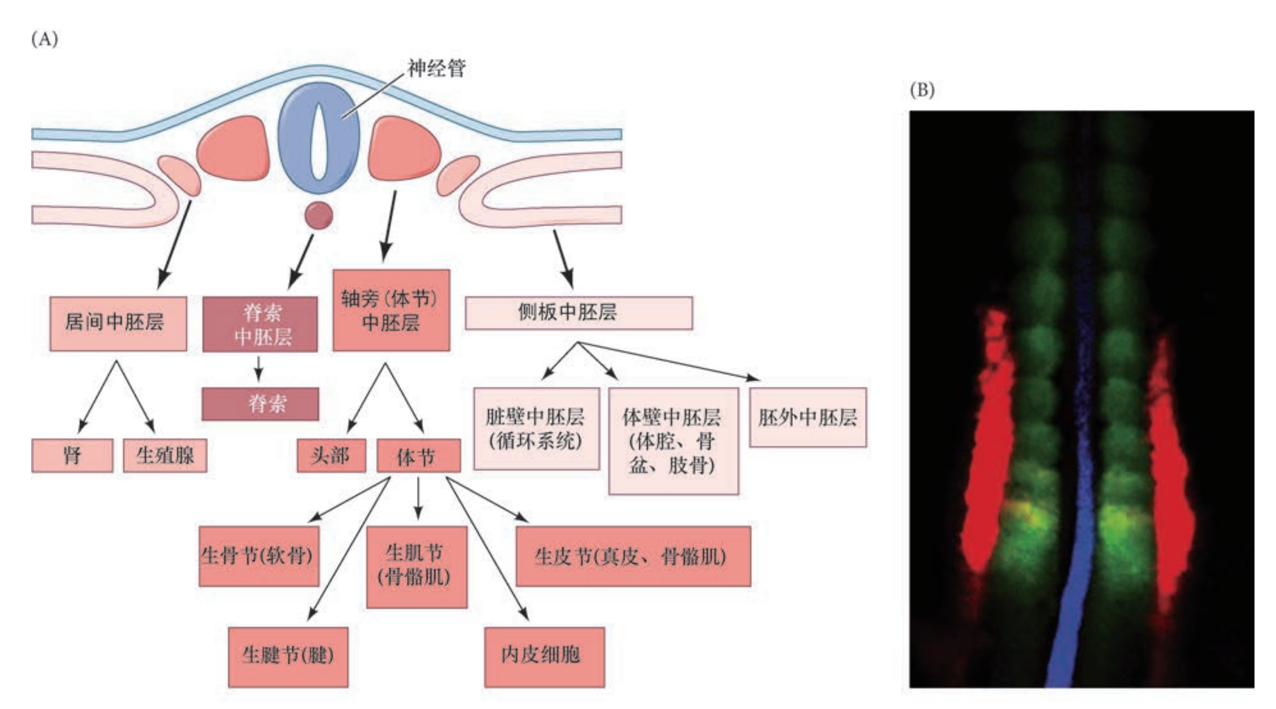


图 18.1 羊膜动物中胚层的主要谱系。(A) 羊膜动物胚胎中胚层区室的示意图。(B) 第 12 体节期（大约 33 h）的鸡胚胎躯干内侧中胚层区室的染色。原位杂交所使用的探针分别结合脊索中 Chordin 的 mRNA（蓝色）、体节中 Paraxis 的 mRNA（绿色），以及居间中胚层中 Pax2 的 mRNA（红色）(B 图来自 Denkers et al. 2004，由 T. J. Mauch 提供)。

18.1 居间中胚层：肾

生理学家和科学哲学家 Homer Smith 在 1953 年提到："我们的肾是我们能够独立自主的主要基础。只是因为它们按照自身的方式工作才使得我们有可能具有骨骼、肌肉、腺体和脑"。虽然这种说法可能有些夸张，但人的肾是一个极其复杂精致的器官，其重要性是不可估量的。肾的功能单元，即**肾单位**（**nephron**），含有 10 000 多个细胞和至少 12 种不同的细胞类型，每种细胞类型具有一个特定功能，并且沿着肾单位的长度相对于其他类型的细胞处在一个特定的位置。

哺乳动物肾的发育经历三个主要的时期。前两个时期很短暂；只有第三个时期，也就是最后一个时期，一直作为一个有功能的肾。在发育的早期（在人类是第 22 天，在小鼠是第 8 天），位于前部体节腹侧的居间中胚层产生**原肾管**（**pronephric duct**）。这个导管的细胞向尾部迁移，而导管的前部区域诱导相邻的间充质细胞形成**原肾**（**pronephros**），也就是初始肾的小管（图 18.2A）。原肾小管在鱼类和两栖类幼体中形成功能性的肾，但一般认为它们在羊膜动物中没有功能。在哺乳动物，原肾小管和原肾管的前部退化，但原肾管的更后部及其衍生物则保留下来，并且在整个发育过程中作为排泄系统的主要成分（Toivonen 1945；Saxén 1987）。这个保留下来的导管通常被称为**中肾管**（**nephric duct**）或**沃尔夫管**（**Wolffian duct**）。

随着原肾小管的退化，中肾管的中部诱导相邻的间充质形成一组新的肾小管（图 18.2B；Sainio and Raatikainen-Ahokas 1999），这组肾小管组成**中肾**（**mesonephros**）。在某些哺乳动物，中肾短暂行使尿液过滤的作用，但在小鼠和大鼠，中肾没有肾的功能。在人类，胚胎在发育到第 25 天左右时形成大约 30 个中肾小管。随着更多的小管在尾部被诱导，前部的中肾小管通过细胞凋亡开始退化。但在小鼠中，前部中肾小管保留下来，而后部中肾小管退化（图 18.2C，D）。虽然目前还不知道人的中肾是否真正过滤血液和产生尿液，但它在短暂的存在过程中的确发挥了重要的发育功能。首先，它是血细胞发育所必需的造血干细胞的主要来源之一（Medvinsky and Dzierzak 1996；Wintour et al. 1996）；其次，在雄性哺乳动物中，一些中肾小管保留下来，变成一些从睾丸将精子输送至尿道的导管（附睾和输精管；见第 6 章）。

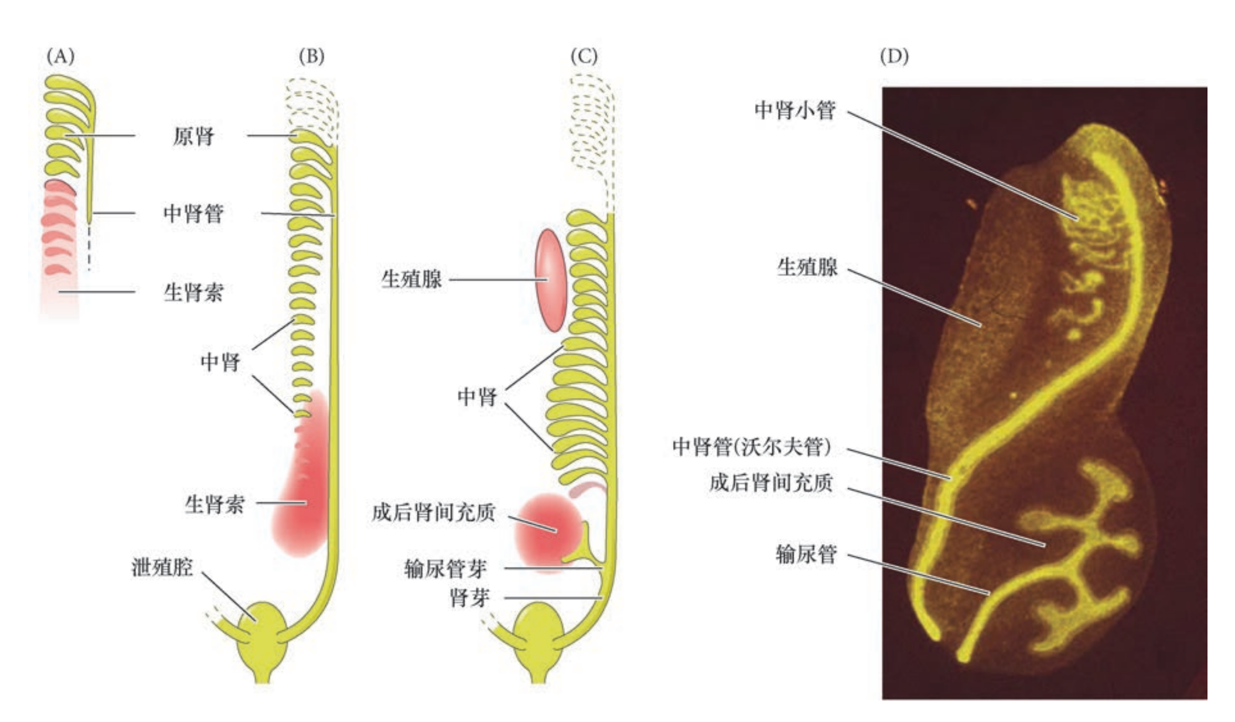


图 18.2　脊椎动物肾发育的基本图式。（A）原肾管在向尾端迁移期间从成肾间充质诱导出一些组成原肾的初始小管。（B）随着原肾的退化，中肾小管开始形成。（C）从中肾管分支而来的输尿管芽诱导哺乳动物最终的肾，即后肾。（D）第 13 天小鼠胚胎的居间中胚层，显示后肾开始形成（下部），而中肾仍然明显可见。导管组织被细胞角蛋白的荧光抗体染色，这个蛋白质在原肾管及其衍生物中表达（A ～ C 图参考 Saxén 1987；D 图由 S. Vainio 提供）。

羊膜动物的永久肾——**后肾**（**metanephros**），源自居间中胚层中上皮和间充质组分之间的一系列复杂相互作用（Costantini and Kopan 2010；McMahon 2016）。首先，形成肾的**后肾间充质**（**metanephric mesenchyme**），有时也被称为生后肾间充质，被定型在居间中胚层的后部区域，它在这个位置从成对的中肾管诱导出一个分支。这些上皮分支被称为**输尿管芽**（**ureteric bud**）。这些芽最终从中肾管生长出来，变成收集管和输送尿液到膀胱的输尿管。输尿管芽从中肾管形成后进入后肾间充质，诱导这些间充质组织在其周围密集，并分化形成哺乳动物肾的肾单位。随着后肾间充质开始分化，它指令输尿管芽进行分支和生长。这种相互诱导使肾得以形成。

18.1.1　居间中胚层的特化：Pax2、Pax8 和 Lim1

鸡胚胎的居间中胚层通过它与轴旁中胚层的相互作用而获得形成肾的能力。虽然它变成居间中胚层的倾向可能是通过骨形态发生蛋白的梯度而建立的，但它的特化似乎是被来自轴旁中胚层的一些信号所稳定。Mauch 以及她的同事（2000）证明，来自轴旁中胚层的信号在鸡胚胎的居间中胚层中诱导原始肾的形成。她们对发育的鸡胚胎进行了切割，使得胚胎一侧的居间中胚层不能与轴旁中胚层相接触。胚胎的这一侧

（与轴旁中胚层的接触被阻断的一侧）不能形成肾，但未受干扰的一侧却能够形成肾（**图 18.3A，B**）。因此，轴旁中胚层似乎对诱导居间中胚层的肾形成能力既是必要的也是充分的。支持这个观点的证据是轴旁中胚层与侧板中胚层共同培养时甚至能诱导它产生原肾小管。其他类型的细胞没有这样的作用。

这些相互作用诱导了一组同源异形域转录因子的表达，包括 Lim1（有时也称之为 Lhx1）、Pax2 和 Pax8，它们能使居间中胚层形成肾（**图 18.3C**；Karavanov et al. 1998；Kobayashi et al. 2005；Cirio et al. 2011）。在鸡胚胎中，Pax2 和 Lim1 从第六体节的位置开始表达在居间中胚层（也就是说只在躯干部，而不在头部）。如果用实验的方法使 Pax2 表达在前体节中胚层，它能把那部分轴旁中胚层转变成居间中胚层，使其表达 Lim1 并形成肾（Mauch et al. 2000；Suetsugu et al. 2005）。类似地，如果在小鼠胚胎中敲除 *Pax2* 和 *Pax8* 基因，对形成中肾管所需的间充质到上皮转换就无法进行，细胞发生凋亡，肾结构不能形成（Bouchard et al. 2002）。而且，在小鼠胚胎中，Lim1 和 Pax2 似乎能相互诱导。

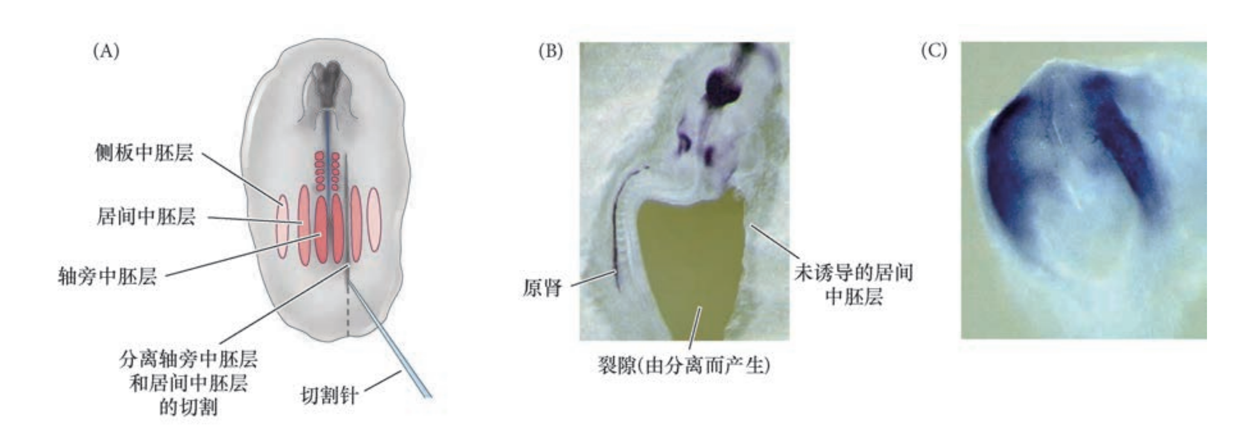


图 18.3 轴旁中胚层的信号诱导鸡胚胎居间中胚层形成原肾。(A) 在胚胎的右侧通过手术将轴旁中胚层与居间中胚层分开。(B) 原肾（Pax2 染色的管状结构）只在左侧形成。(C) 第 8 天小鼠胚胎中 Lim1 的表达，显示未来居间中胚层区域（A 图和 B 图参考 Mauch et al. 2000；B 图由 T. J. Mauch 和 G. C. Schoenwolf 提供；C 图由 K. Sainio 和 M. Hytönen 提供）。

Lim1 对小鼠肾的形成有多种作用。在发育早期，它对居间间充质向中肾管的转变是必需的（Tsang et al. 2000）；在后期，它对形成输尿管芽及来自中肾和后肾间充质的肾单位也是必需的（Shawlot and Behringer 1995；Karavanov et al. 1998；Kobayashi et al. 2005）。

表达 Lim1 和 Pax2 的细胞的前端边界似乎是某个区域上部的细胞失去了应答激活蛋白的能力而建立的，激活蛋白是神经管分泌的转化生长因子 -β 家族的旁分泌因子。转录因子 Hoxb4 赋予细胞这种应答激活蛋白的能力，而它在居间中胚层的最前端区域不表达。表达 *Hoxb4* 的前端边界被视黄酸的一个浓度梯度所建立；局部添加激活蛋白能降低这个浓度梯度，使得肾向前延伸（Barak et al. 2005；Preger-Ben Noon et al. 2009）。

18.1.2 发育中的肾脏组织之间的互相作用

肾是由来自居间中胚层间充质的两种不同祖细胞群体（输尿管芽和后肾间充质）形成的。输尿管芽产生构造成熟收集管和输尿管的所有细胞类型，而后肾间充质产生构造成熟肾单位的所有细胞类型，以及一些血管和基质衍生物。这两组细胞，即输尿管芽和后肾间充质，互相作用并且彼此互相诱导而形成肾（**图 18.4**）。后肾间充质促使输尿管芽延伸和分支。这些分支的顶端诱导松散的后肾间充质细胞形成一些前肾管聚集体。每个聚集的结节增殖和分化，形成一个肾单位的复杂结构。每个前肾管聚集体首先进行间充质到上皮转换，变成一个极化的肾泡；然后，这个肾泡延伸成一个逗号的形状，再形成一个特征性的 S 形管。随后不久，这个上皮结构的细胞开始分化成区域特异性的细胞类型，包括鲍曼氏囊细胞、足

细胞，以及近端和远端肾小管的细胞。在这种转变的同时，最接近输尿管芽的 S 形小管的细胞降解输尿管芽上皮的基底膜并迁移到导管区域。这样就在输尿管芽和新形成的肾单位小管之间形成一个开放的连接，使得物质从一个管进入另一个管（Bard et al. 2001；Kao et al. 2012）。这些间充质来源的小管形成功能性肾的成熟肾单位，而分支的输尿管芽形成收集管，以及将尿液从肾排出的输尿管。

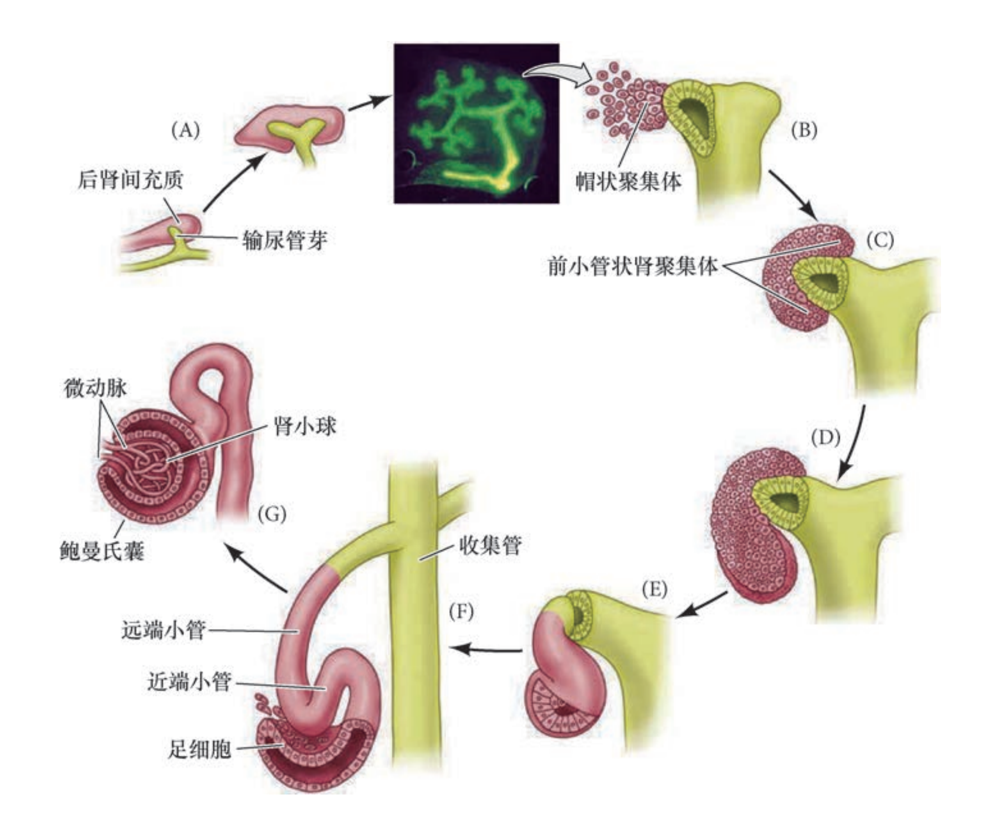


图 18.4　哺乳动物肾发育过程中的相互性诱导。(A) 输尿管芽进入后肾间充质时，间充质诱导这些芽进行分支。(B ～ G) 在分支的顶端，上皮诱导后肾间充质聚集和成腔，以形成肾小管和肾小球（来自微动脉的血液在这里被过滤）。间充质密集成上皮后便开始降解对它产生诱导的输尿管芽细胞的基底膜，并与输尿管芽上皮连接。一部分聚集的间充质（前肾管聚集体）变成肾单位（肾小管和鲍曼氏囊），而输尿管芽形成尿液的收集管（参考 Saxén 1987；Sariola 2002）。

Clifford Grobstein（1955，1956）在体外论证了这种相互性的诱导。他将输尿管芽与后肾间充质分开后在体外进行独立或共同培养。在没有间充质的情况下，输尿管芽不分支。在没有输尿管芽的情况下，间充质很快就死亡。但是将它们放置在一起后，输尿管芽生长并分支，肾单位在整个间充质中形成。这个结果被一些使用绿色荧光蛋白标记的蛋白质来跟踪细胞分裂和分支的实验所证实（**图 18.5**；Srinvas et al. 1999）。

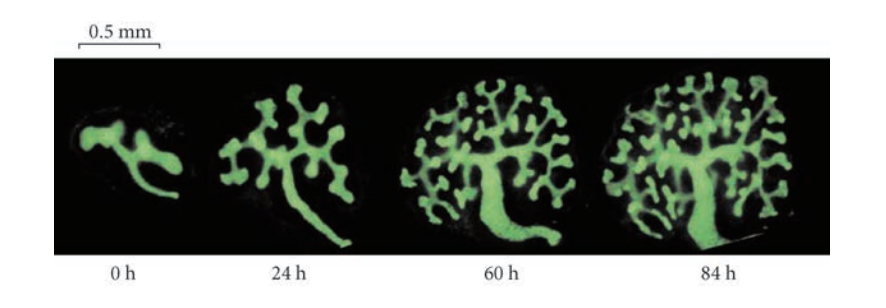


图 18.5　体外观察的肾分支。第 11.5 天小鼠胚胎的一个肾原基被培养在体外。在这个转基因小鼠中绿色荧光蛋白的基因与 *Hoxb7* 的启动子融合，因此中肾（沃尔夫）管和输尿管芽表达绿色荧光蛋白。因为可以在活体组织中观察绿色荧光蛋白的表达，所以肾的发育过程就能被予以跟踪（Srinivas et al. 1999，由 F. Costantini 提供）。

18.1.2.1　相互性诱导的机制

后肾的诱导可以被看成是输尿管芽与后肾间充质之间的对话。随着对话的进行，两种组织都发生了变化。相对于其他器官，我们将更专注地“窃听”肾发育过程中的对话，部分原因是肾已成为研究器官

发生的一个模型（Costantini 2012；Krause et al. 2015a）。很多能够使肾单位及其收集管相互诱导的旁分泌因子已经被鉴定出来，有一种可能性（Krause et al. 2015b）是这些蛋白质被包装成外排体，其中的成分可能会在邻近的细胞上聚集。

第一步：后肾间充质和输尿管芽的形成 后肾间充质和输尿管芽比它们看起来更相似。两者都来源于居间中胚层，并且都是通过 Wnt 和成纤维细胞生长因子信号途径的作用而产生。输尿管上皮来自早期迁移的居间中胚层，这些迁移的细胞仅在短时间内接触到 Wnt 信号，随后在较长时间内接触尾部的成纤维细胞生长因子 -9 和视黄酸信号。将要变成后肾间充质的细胞稍后迁移通过原条，因此接触 Wnt 信号的时间更长。随后，这些细胞受到成纤维细胞生长因子和视黄酸信号的诱导（图 18.6；Takasato et al. 2015），表达一组能使后肾间充质应答输尿管芽的转录因子。只有后肾间充质具有应答输尿管芽和形成肾小管的能力（Saxén 1970；Sariola et al. 1982）。

Wnt 和成纤维细胞生长因子信号产生这两种祖细胞群体的能力在人的诱导多能干细胞中得到了证明。将人的诱导多能干细胞在 Wnt 和成纤维细胞生长因子信号途径的激活物中依次培养时，它们能变成输尿管上皮或后肾间充质，这取决于它们在每个因子中的培养时间。短暂接触 Wnt 信号的细胞变成上皮，而

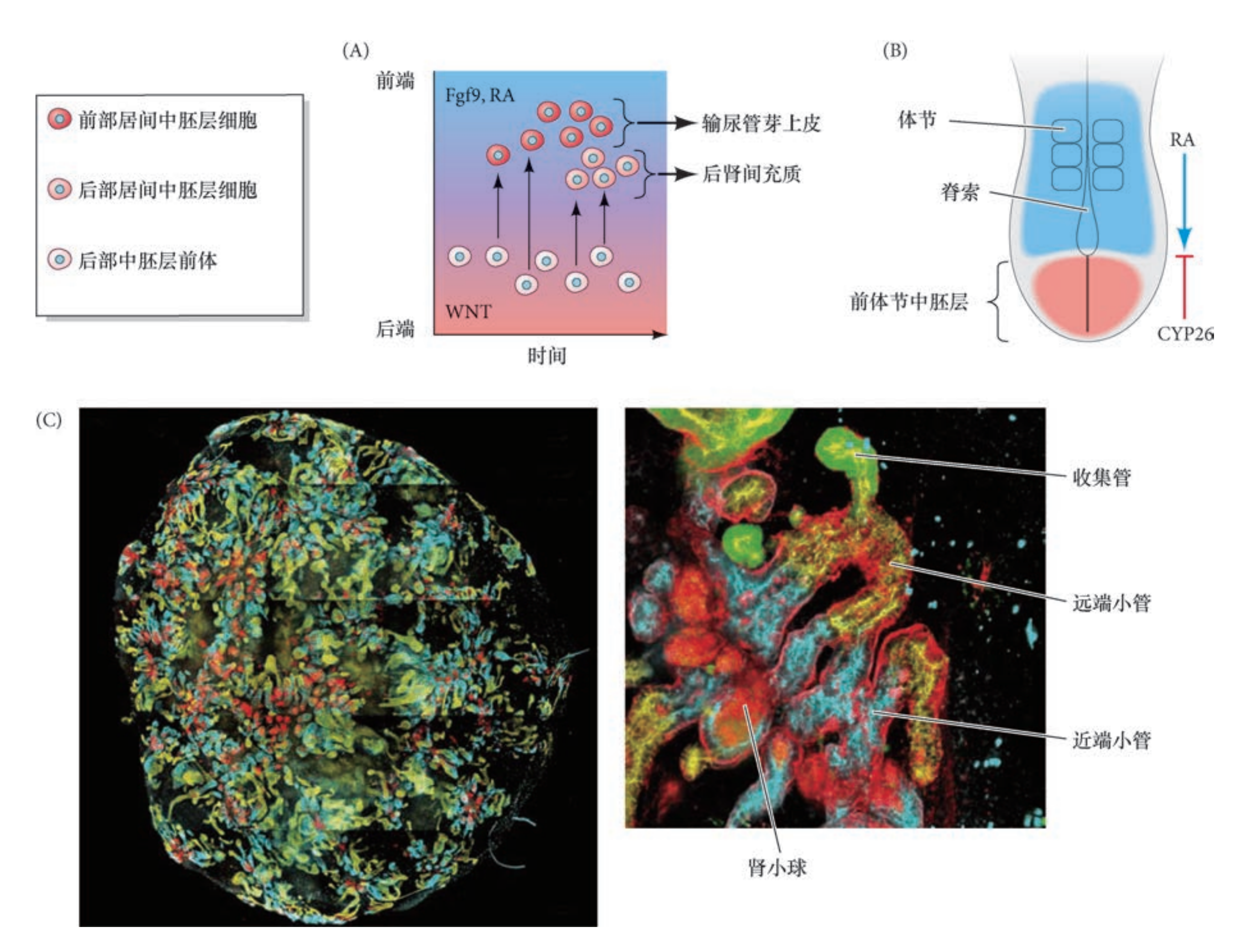


图 18.6 利用诱导多能干细胞产生小鼠肾的类器官。(A) 从后部中胚层前体细胞形成输尿管芽和后肾中胚层的机制示意图。在原肠胚形成早期从后部中胚层迁移的前体细胞离开 Wnt 区域，前往成纤维细胞生长因子（Fgf）和视黄酸（RA）信号强的区域。这些细胞变成输尿管芽上皮的祖细胞。那些稍后迁移的细胞在 Wnt 信号占主导地位的区域停留更长的时间后，变成后肾间充质的祖细胞。(B) 原条期后期的视黄酸信号。视黄酸降解酶（CYP26）表达在前体节中胚层区域，保护后部中胚层前体细胞不受视黄酸信号的影响。(C) 免疫荧光显微镜观察一个肾类器官，这是使人的诱导多能干细胞依次接触 Wnt 信号和成纤维细胞信号而形成的。右侧的图是肾单位的高倍放大，显示肾单位被分隔成 4 个区室，包括收集管（绿色）、远端（黄色）和近端（蓝色）小管及肾小球（红色）（参考 Takasato et al. 2015）。

较长时间接触 Wnt 信号的细胞产生能够形成肾的间充质，正如胚胎中的情况一样。更显著的是，这些类型的细胞在共同培养时能产生类似于肾的类器官（**图 18.6B**；Takasato and Little 2015）。虽然这些类器官没有复杂的肾单位结构，但它们形成了肾单位和收集管的主要细胞类型。

第二步：后肾间充质通过分泌胶质细胞源性神经营养因子诱导和指令输尿管芽　这一阶段开始分泌一些能够诱导输尿管芽出现的旁分泌因子。在视黄酸（在很多周围组织中产生）的作用下，邻近的中肾管受到指令而在细胞表面表达 Ret 受体（Rosselot et al. 2010）。Ret 是**胶质细胞源性神经营养因子**（**glial-derived neurotrophic factor，GDNF**）的受体。后肾间充质分泌的胶质细胞源性神经营养因子使输尿管芽从中肾管向外生长。的确，在输尿管的形成过程中，一组中肾管细胞（Ret 受体活性最高的那些细胞）迁移到距离胶质细胞源性神经营养因子的源头最近的位置，因此形成新生输尿管芽的顶端（**图 18.7A**；Chi et al. 2009）。胶质细胞源性神经营养因子或其受体的基因被敲除的小鼠在出生后不久就死于肾不发育，即肾缺失（**图 18.7B ～ D**；Moore et al. 1996；Pichel et al. 1996；Sánchez et al. 1996）。中肾管其他区域的增殖能力似乎受到激活蛋白的抑制，而胶质细胞源性神经营养因子的主要作用机制之一可能是局部抑制激活蛋白的抑制作用；通过实验手段抑制激活蛋白后能形成大量的输尿管芽（Maeshima et al. 2006）。

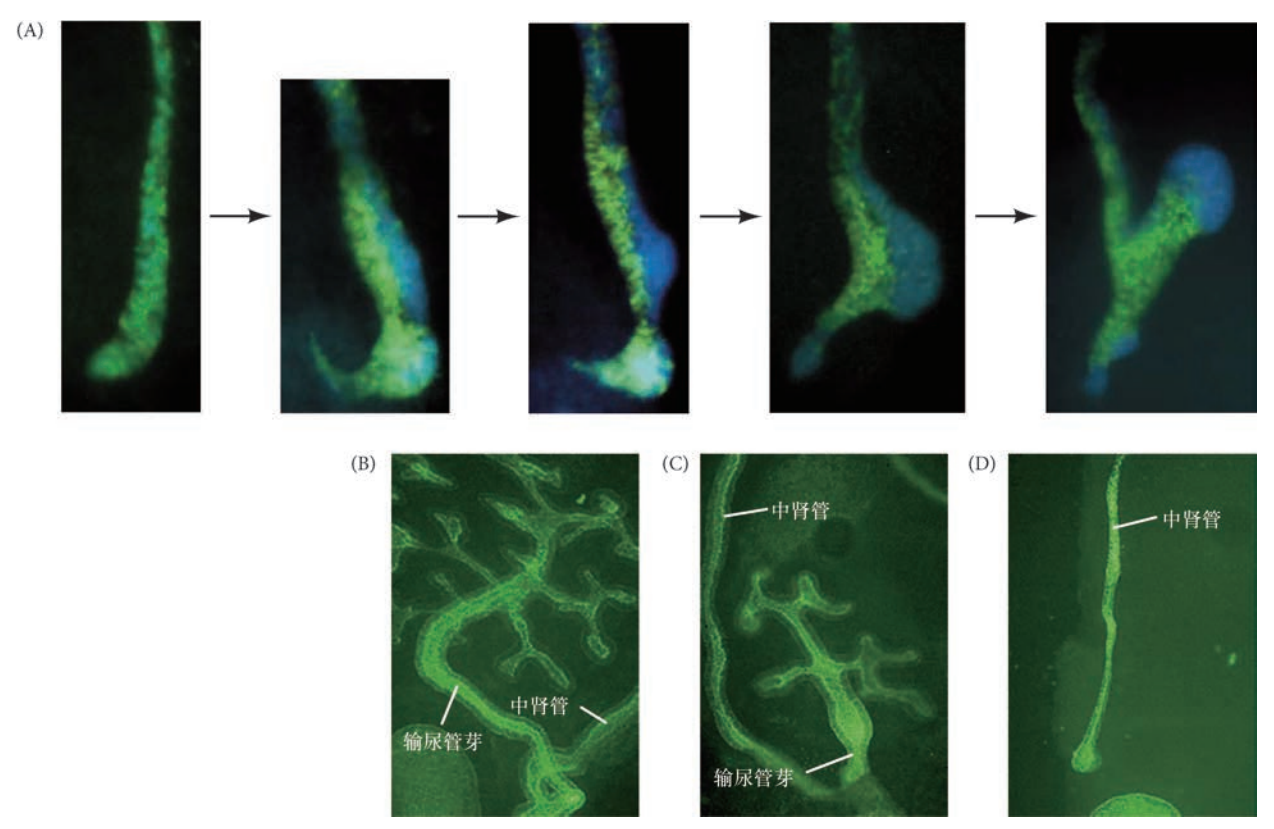


图 18.7　输尿管芽的生长依赖于胶质细胞源性神经营养因子及其受体。（A）如果制备一个既有缺失 Ret 细胞（绿色）也有表达 Ret 细胞（蓝色）的小鼠，表达 Ret 的细胞迁移形成输尿管芽的顶端。（B）从第 11.5 天的野生型小鼠中取出的胚胎肾的输尿管芽在体外培养 72 h 后形成特征性的分支图式。（C）在编码胶质细胞源性神经营养因子的基因的杂合突变体小鼠胚胎中，肾的大小及输尿管芽分支的数目和长度都明显减少。（D）胶质细胞源性神经营养因子的两个等位基因都发生缺失的小鼠胚胎不能形成输尿管芽（A 图来自 Chi et al. 2009，由 F. Costantini 提供；B ～ D 图来自 Pichel et al. 1996，由 J. G. Pichel 和 H. Sariola 提供）。

第三步：输尿管芽通过分泌成纤维细胞生长因子 -2 和骨形态发生蛋白 -7 阻止间充质凋亡　肾发育的第三个信号从输尿管芽被发送到后肾间充质。如果不受输尿管芽的诱导，间充质细胞就会发生凋亡（Grobstein 1955；Koseki et al. 1992）；但是，如果受到输尿管芽的诱导，间充质细胞就从死亡的边缘被拯救回来，并转变成增殖的干细胞（Bard and Ross 1991；Bard et al. 1996）。输尿管芽分泌的一些因子包括成

纤维细胞生长因子 -2、成纤维细胞生长因子 -9 和骨形态发生蛋白 -7。成纤维细胞生长因子有三种作用方式：①抑制细胞的凋亡；②促进间充质细胞的致密；③维持 WT1 的合成，这是一个对输尿管芽向外生长所必需的转录因子（Perantoni et al. 1995；Dudley et al. 1995；Luo et al. 1995）。

第四步：肾间充质的信号诱导输尿管芽分支 包括胶质细胞源性神经营养因子、Wnt、成纤维细胞生长因子和骨形态发送蛋白在内的一些旁分泌因子都参与调节输尿管芽的分支，它们很可能对细胞分裂和细胞外基质产生“推”和“拉”的作用（Ritvos et al. 1995；Miyazaki et al. 2000；Lin et al. 2001；Majumdar et al. 2003）。调节输尿管芽分支的第一个蛋白质是来源于间充质的胶质细胞源性神经营养因子，它不仅从中肾管诱导形成初始输尿管芽，而且还能在这些输尿管芽进入间充质时诱导它们产生一些次级芽（图 18.8；Sainio et al. 1997；Shakya et al. 2005；Chi et al. 2008）。

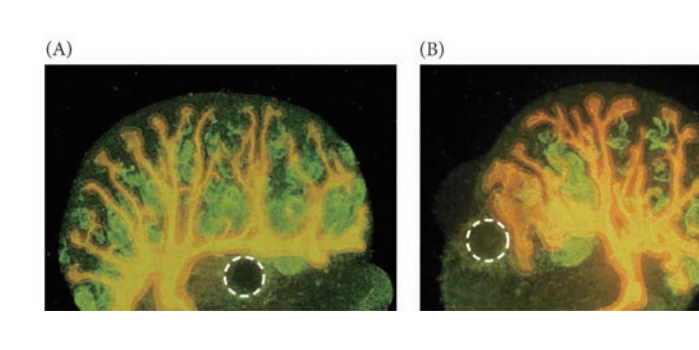


图 18.8 胶质细胞源性神经营养因子对输尿管上皮分支的作用。输尿管芽及其分支被染成橙色（用细胞角蛋白 -18 的抗体），而肾单位被染成绿色（用肾单位刷状缘抗原的抗体）。(A) 第 13 天小鼠胚胎的肾与对照组珠子（圆圈）在体外培养 2 天后形成正常的分支图式。(B) 一个类似的肾与浸有胶质细胞源性神经营养因子的珠子在体外培养 2 天后呈现出扭曲的分支图式，在珠子附近诱导出新的分支（来自 Sainio et al. 1997，由 K. Sainio 提供）。

胶质细胞源性神经营养因子在芽顶端的应答细胞中似乎也诱导 Wnt11 的合成（图 18.9A），Wnt11 反过来又调节胶质细胞源性神经营养因子的表达水平（Majumdar et al. 2003；Kuure et al. 2007）。胶质细胞源性神经营养因子 /Ret 信号途径和 Wnt 信号途径之间的配合似乎协调分支与后肾间充质增殖之间的平衡，使得肾能够持续发育。通过这种方式，两组干细胞被维持下来（Mugford et al. 2009；Barak et al. 2012），这些细胞是**输尿管芽顶端细胞 (ureteric bud tip cell)** 和**间充质帽细胞 (mesenchyme cap cell)**。

观察发育 18.1 一些视频显示小鼠肾在体外逐渐分支的过程。

第五步：Wnt 信号将聚集的间充质细胞转变成一个肾单位 有些间充质细胞并没有被维持在未分化状态。这些间充质细胞变成肾单位的祖细胞，它们能应答输尿管芽的 Wnt9b 和 Wnt6。这两个因子对后肾间充质细胞转变为管状上皮至关重要。间充质细胞表达这些 Wnt 的受体（Itäranta et al. 2002），而且这些受体似乎能诱导间充质表达 Wnt4（图 18.9）。Wnt4 通过自分泌的方式完成间充质团向上皮的转换（Stark et al. 1994；Kispert et al. 1998）。在缺失 *Wnt4* 基因的小鼠中，间充质细胞能够致密，但不能形成上皮。

上皮通过中空化形成肾泡，这个泡从近端（靠近输尿管芽一端）到远端的方向迅速发生极化。一些信号因子（特别是 Notch 蛋白）的组合在新上皮的整个长度上对差异性基因表达至关重要。随着上皮改变形状，形成 C 形和 S 形的小管，肾单位的各个区域也被特化（Georgas et al. 2009）。肾单位与输尿管芽连接的机制仍有待进一步的研究。

第六步：将输尿管插入膀胱 分支的上皮变成肾的收集系统。这个上皮收集肾单位过滤的尿液，并分泌抗利尿激素以便对水进行再吸收（这个过程并非偶然，它使陆地生活成为可能）。位于第一个分支点上部的初始输尿管芽柄变成输尿管，这是将尿液输送到膀胱的导管。输尿管与膀胱之间的连接极其重要，这一连接出现在不正确的位置和尿液不能进入膀胱时会使肾盂积水，是一种导致肾过滤异常的出生缺陷。间充质细胞在输尿管周围（而不是在收集管周围）的致密使输尿管变成一个防水的连接管。这些间充质细胞变成能够进行波状收缩（蠕动）的平滑肌细胞，使得尿液能够被输送到膀胱。这些细胞也分泌骨形态

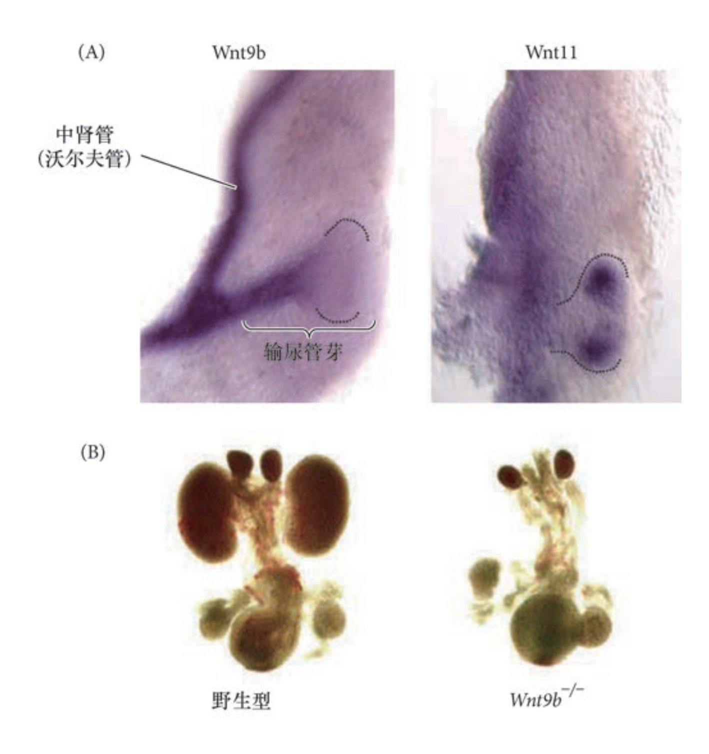


图 18.9　Wnt 对肾的发育至关重要。(A) 在第 11 天的小鼠胚胎的肾中，Wnt9b 表达在输尿管芽的柄部，而 Wnt11 表达在输尿管芽的顶端。Wnt9b 诱导后肾间充质进行致密；Wnt11 分隔后肾中胚层以诱导输尿管芽分支。输尿管芽的边缘用虚线标出。(B) 第 18.5 天的野生型雄性小鼠胚胎（左侧）有正常的肾、肾上腺和输尿管。缺失 Wnt9b (*Wnt9b*$^{-/-}$) 的小鼠（右侧）没有肾（来自 Carroll et al. 2005）。

发生蛋白 -4 (Cebrian et al. 2004)，能够上调编码 uroplakin 蛋白的基因的表达，这是一个细胞膜蛋白，它诱导输尿管芽的这个区域分化为输尿管，而骨形态发生蛋白的抑制物能阻止形成收集管的输尿管芽区域向输尿管分化。

膀胱从泄殖腔的一部分发育而来（图 **18.10A, B**）。**泄殖腔 (cloaca)**[1] 是一个位于胚胎尾端的内胚层衬室，将变成肠和肾的废物容器。两栖类、爬行类和鸟类的成体使用同一个泄殖腔来排除固体和液体废物。在哺乳动物，泄殖腔被一个隔膜分隔成尿生殖窦和直肠。尿生殖窦的一部分变成膀胱，而另一部分形成尿道（将尿液排到体外）。输尿管芽最初通过中肾（沃尔夫）管汇入膀胱，而中肾管通过肝配蛋白介导的途径向膀胱生长 (Weiss et al. 2014)。一旦到达膀胱，膀胱的尿生殖窦细胞将自身包裹在输尿管和中肾管的周围。然后，中肾管向腹部迁移，开口于尿道，而不进入膀胱和中肾管（图 **18.10 C ～ F**）。中肾管的后端似乎发生细胞凋亡，使得输尿管与中肾管分离。膀胱的扩张将输尿管移动到膀胱颈部的最终位置 (Batourina et al. 2002；Mendelsohn 2009)。在雌性，整个中肾管退化，而苗勒氏管开口于阴道（见第 6 章）。在雄性，中肾管还形成精子流出道，所以雄性通过同一出口排出精子和尿液。

因此，过滤血液的肾从居间中胚层两个部分（输尿管芽和后肾间充质）的相互诱导中产生。现在我们可以去关注更侧部侧板中胚层，认识心脏、血管和血液的发生。

18.2　侧板中胚层：心脏和循环系统

在 1651 年，正值英国内战的混乱年代，御医 William Harvey 把心脏视为身体无可争议的主宰者，通过它神圣的力量，生物体的合理生长才得到了保证。后来的胚胎学家感到心脏更像是一个仆人而非主宰者，好似一个家庭的管家，负责将营养物送到位于顶端的脑和位于外周的肌肉。在这两个比喻中，心脏和它的血液循环 (Harvey 所发现）对发育都是至关重要的。例如，1651 年 Harvey 令人信服地指出，鸡胚胎必须在没有母鸡的任何帮助下形成自身的血液，这些血液对于胚胎的生长至关重要。至于这是如何发生的，

[1] 泄殖腔这个术语在拉丁语中是“下水道”的意思，这是欧洲早期解剖学家的一个恶作剧。

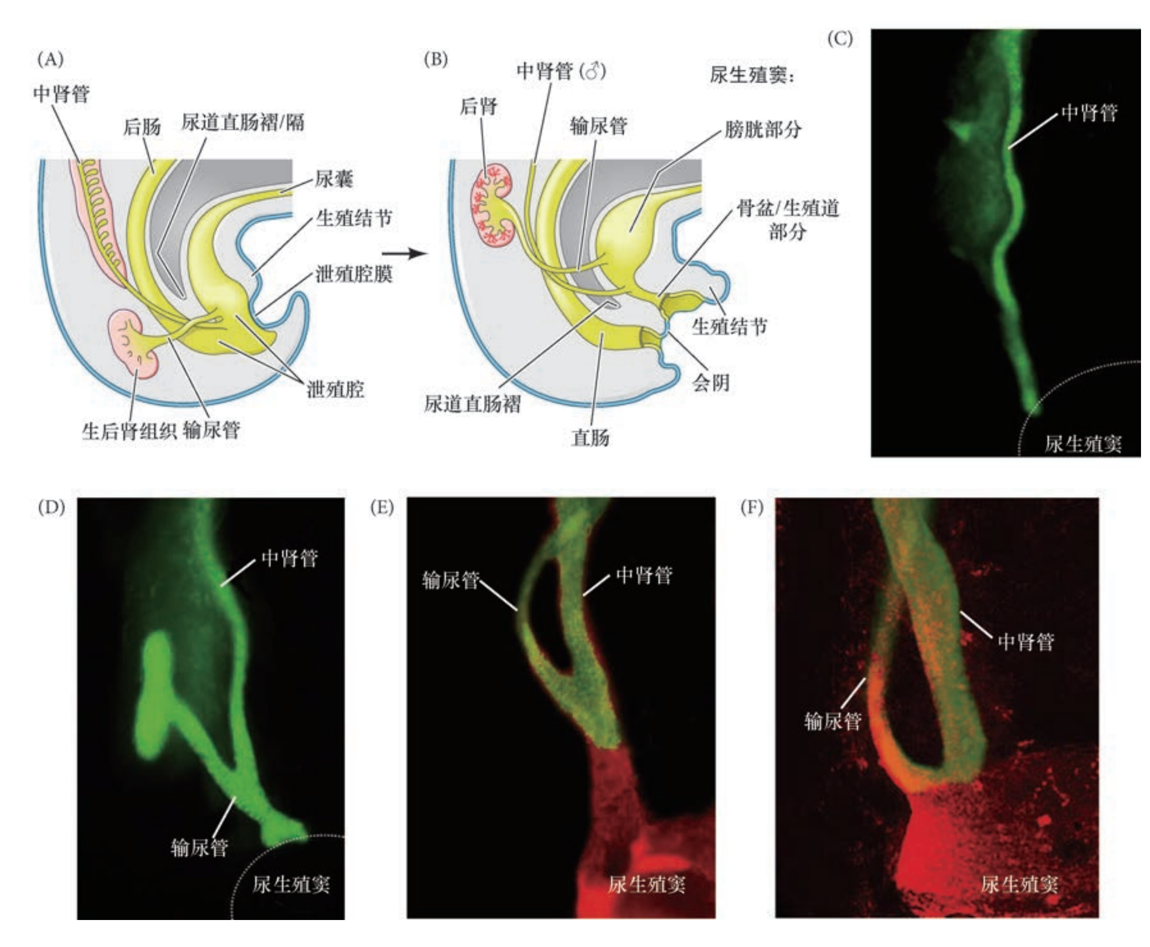


图 18.10 膀胱的发育及其通过输尿管与肾的连接。(A) 泄殖腔是一个内胚层性的收集区，向尿囊开口。(B) 泌尿生殖膈将泄殖腔分隔成未来的直肠和尿生殖窦。尿生殖窦的前部形成膀胱，而后部形成尿道。直肠开口与尿道口之间的间隙是会阴。(C ～ F) 输尿管插入小鼠胚胎的膀胱。(C) 第 10 天小鼠的泌尿生殖道，中肾管被 *Hoxb7* 启动子驱动的绿色荧光蛋白标记。(D) 第 11 天小鼠胚胎的泌尿生殖道，输尿管芽已经向外生长。(E) 第 12 天的胚胎中泌尿生殖道的整封染色，泌尿生殖道为绿色，尿生殖窦为红色。(F) 输尿管与中肾管分开，形成一个进入膀胱的独立开口 (A 图和 B 图参考 Cochard 2002；C ～ F 图来自 Batourina et al. 2002，由 C. Mendelsohn 提供)。

对他来说却是一个谜。

曾经使 Harvey 好奇的心脏和循环系统来自脊椎动物胚胎的侧板中胚层。侧板中胚层位于两条居间中胚层的外侧 (见图 18.1)，每一个侧板沿水平面分成两层，背侧的一层是**体壁中胚层** (**somatic mesoderm**，或 **parietal mesoderm**)，位于外胚层之下，与外胚层共同形成**胚体壁** (**somatopleure**)；腹侧的一层是**脏壁中胚层** (**splanchnic mesoderm**，或 **visceral mesoderm**)，这一层位于内胚层之上 (**图 18.11A**)，与内胚层共同形成**胚脏壁 (splanchnopleure)**。这两层之间的空腔变成**体腔** (**coelom**)，从未来的颈部区域一直延伸到身体后部。

网络话题 18.1 **体腔形成** 体腔形成和侧板中胚层扩张的一个动画。

在胚胎发育后期，左右体腔融合，从体壁中胚层延伸出来的组织折叠将体腔分成一些独立的腔。在哺乳动物，这些中胚层折叠把体腔分成**胸膜腔** (**pleural cavity**)、**围心腔** (**pericardial cavity**) 和**腹膜腔** (**peritoneal cavity**)，分别包裹胸部、心脏和腹部。侧板中胚层形成这些体腔内衬的机制在整个脊椎动物的进化中几乎没有变化，羊膜动物中胚层的发育可以与类似时期的蛙胚胎相比较 (**图 18.11B，C**)。

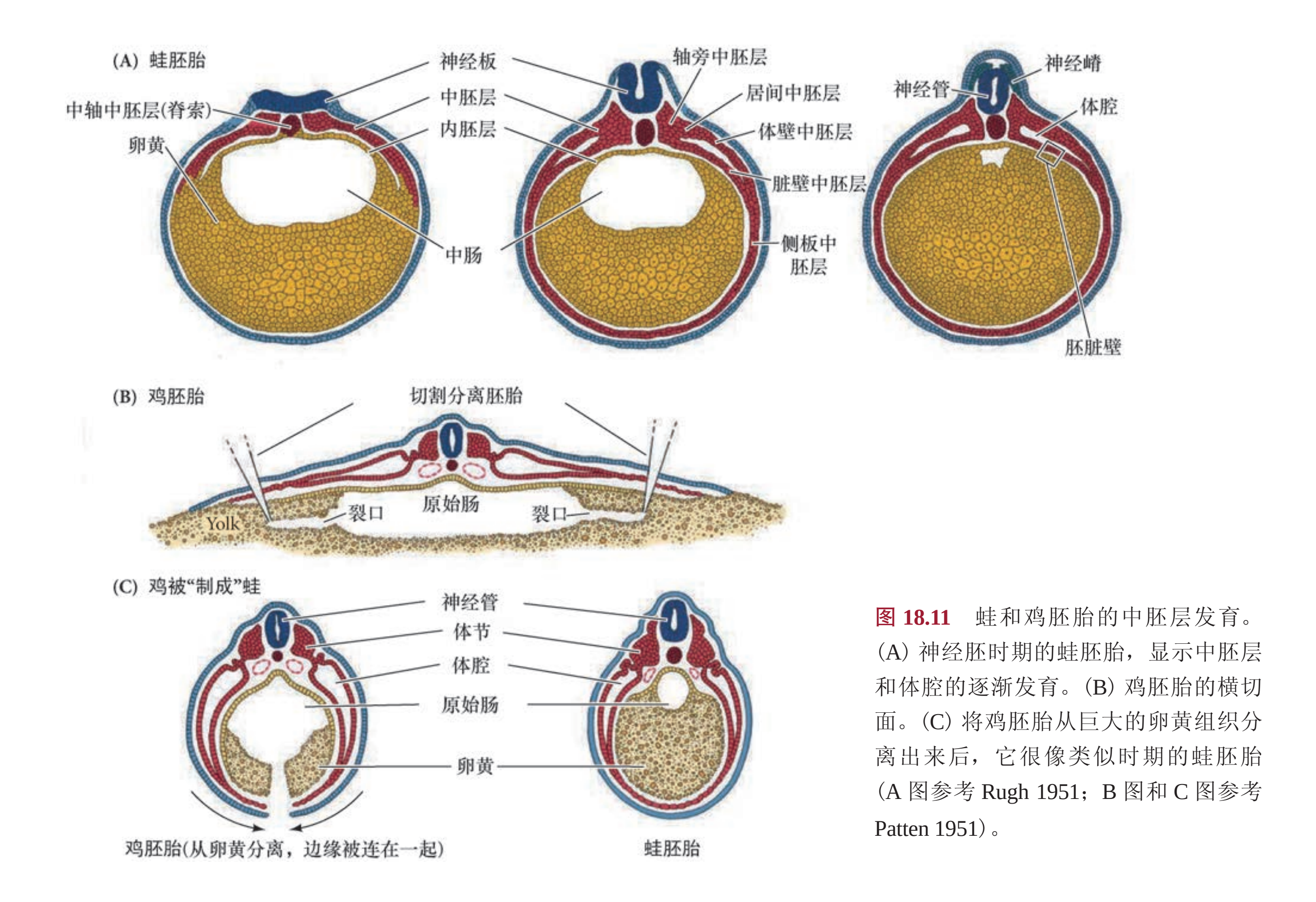


图 18.11　蛙和鸡胚胎的中胚层发育。(A) 神经胚时期的蛙胚胎，显示中胚层和体腔的逐渐发育。(B) 鸡胚胎的横切面。(C) 将鸡胚胎从巨大的卵黄组织分离出来后，它很像类似时期的蛙胚胎 (A 图参考 Rugh 1951；B 图和 C 图参考 Patten 1951)。

心脏、血细胞和一个复杂的血管系统所组成的循环系统是脊椎动物胚胎的第一个功能单位，为发育中的生物体提供营养。生物学中很少有像在 2 天的鸡胚胎中观察心脏跳动、看刚形成的血细胞被注入到还没有形成瓣膜的血管这样的事件更发人深省和易于理解。循环系统的发育为研究诱导、特化、细胞迁移、器官形成，以及干细胞在胚胎发育和成体组织再生中的作用提供了极好的范例。

18.2.1　心脏发育

循环系统是发育中胚胎的第一个运行单元，并且心脏是第一个功能性器官。与其他器官一样，心脏来自前体细胞的特化、这些前体细胞向器官形成区域的迁移、组织内部和组织之间信号互作所产生的细胞类型特化，以及形态发生、生长和细胞分化之间的协调。

18.2.1.1　一个简约型的心脏

鸡和哺乳动物的心脏都是很复杂和颇有巴洛克风格的结构。然而，心脏却是从极为简单的泵演变而来的 (Stolfi et al. 2010)。作为哺乳动物心脏的四分室杰作是大约 24 个细胞形成的被囊动物单室心脏的进一步发育细化。在被囊动物（与脊椎动物亲缘关系最近的无脊椎动物；见第 10 章），心脏前体细胞形成双侧细胞簇，这些细胞簇沿内胚层向前部和腹部迁移，然后在腹中线融合 (Davidson et al. 2005)。形成被囊动物心脏的少数细胞与鸡和小鼠的心脏谱系似乎有相同的转录因子基本图式。

在进行原肠胚形成的被囊动物胚胎中，只有接近植物极的两对中胚层细胞属于心脏谱系。胚胎每一侧都有一对表达转录因子 MesP 的 B8.9 和 B8.10 卵裂球，恰似脊椎动物的心脏前体细胞（图 18.12；Davidson et al. 2006）。在神经胚形成过程中，这四个心脏生成细胞都进行不对称分裂，产生一个生成心脏

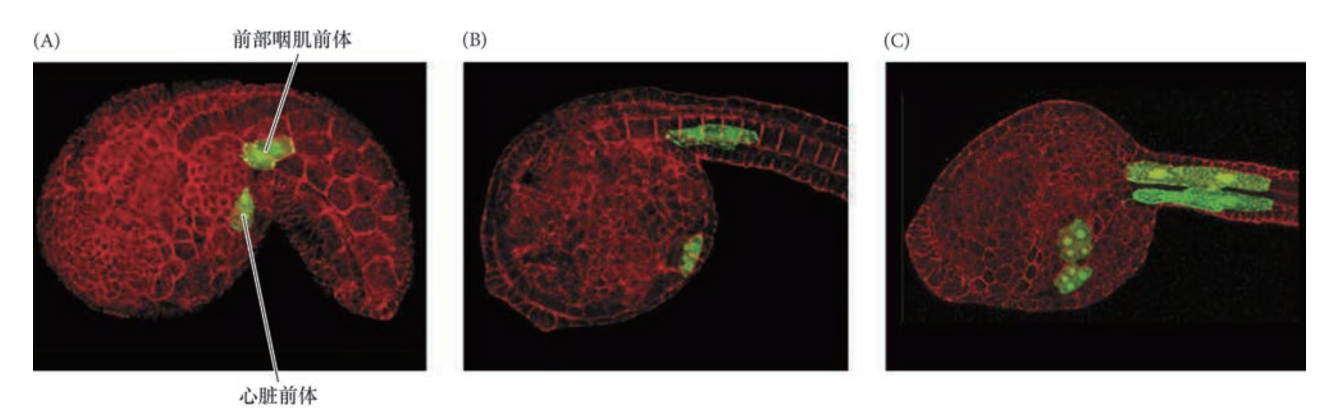


图 18.12 被囊动物海鞘（*Ciona*）心脏的发育。(A) 在尾芽期的胚胎中，MesP-GFP 转基因发出的荧光见于 MesP 被 Tbx6 在 B8.9 和 B8.10 卵裂球激活的区域。(B) 在稍后时期，心脏前体迁移到头部区域。(C) 腹外侧观，显示左右心脏和肌肉前体。细胞分裂形成心脏（左侧）和前部肌肉（来自 Davidson et al. 2005）。

前体的小细胞和一个生成前部咽肌前体的大细胞。前端的尾细胞不进行迁移，但它们表达视黄醛脱氢酶，起始心脏细胞特化的视黄酸浓度梯度，这与脊椎动物胚胎中的情况一样。

此外，与脊椎动物心脏前体一样，成纤维细胞生长因子信号似乎对心脏细胞的产生至关重要，这个信号与 MesP 共同诱导 Nkx2-5、GATA 和 Hand 家族转录因子（Davidson and Levine 2003；Simões-Costa et al. 2005）。心咽前体细胞分裂时，继续结合表皮的细胞外基质的细胞保留成纤维细胞生长因子的受体，而不与表皮黏附的细胞将受体内化并降解。这样，与表皮附着的细胞能应答成纤维细胞生长因子并变成心脏前体细胞，而没有成纤维细胞生长因子受体的细胞不能应答这个旁分泌因子，因此产生咽肌细胞（Cota and Davidson 2015）。

18.2.1.2 心区的形成

被囊动物胚胎的发育迅速并且由少数的细胞组成，而脊椎动物心脏来自脏壁中胚层的两个区域，位于身体两侧，这两个区域与邻近组织相互作用，被特化成心脏发育的命运。

在羊膜动物的早期原肠胚中，心脏祖细胞（在小鼠中大约是 50 个）位于上胚层两侧的两个小斑块，接近原条的喙端。这些细胞一起经过原条迁移，形成两组侧板中胚层细胞，位于原结的前端（Tam et al. 1997；Colas et al. 2000）。**心区**（**heart field**）或**生心中胚层**（**cardiogenic mesoderm**）的总体特化在这种细胞迁移的过程中就已经开始。Stalberg 和 DeHann（1969）及 Abu-Issa 和 Kirby（2008）的标记实验证明，心区的祖细胞进行迁移，致使这些早期细胞的内 - 外侧（从中央到侧部）排列变成线性**心管**（**heart tube**）的前 - 后（喙 - 尾）轴。

脊椎动物的心区可被分成至少两个区域（图 18.13）。第一心区似乎形成发育过程的心脏的支架。这个心区的祖细胞在中线处融合后形成初级心管，产生左右心室的肌肉区域（de la Cruz and Sanchez-Gomez 1998）。然而，这些细胞的增殖能力有限，因此仅产生成体心脏左心室（将血液泵入主动脉的区室）的大部分。第二心区的祖细胞为心管的前端和后端添加细胞（Meilhac et al. 2015）。在后端，这些细胞将形成两个心房并参与形成心脏的入口部分。在前端，第二心区将产生右心室及流出道区域（动脉圆锥和动脉干），最后变成主动脉和肺动脉的基部（de la Cruz et al. 1989；Kelly 2012）。只有通过一个成环的过程使心房处在心室的前部才能产生成体的四室心脏。

第二心区是一组不同寻常的细胞，因为它不仅含有心脏的祖细胞，而且也含有产生面部肌肉、肺动脉和肺静脉及肺间充质的细胞（Lescroart et al. 2010，2015；Peng et al. 2013）。因此，心脏前体细胞以一种非凡的方式与面部和肺的发育相协调。咽和心脏中胚层的共同前体被认为是来源于一组咽和心脏祖细胞，与某些后口无脊椎动物（如被囊动物）类似（Diogo et al. 2015）。

心脏的所有细胞类型，如形成肌肉层的**心肌细胞**（**cardiomyocyte**）、形成内层的**心内膜**（**endocardium**）、

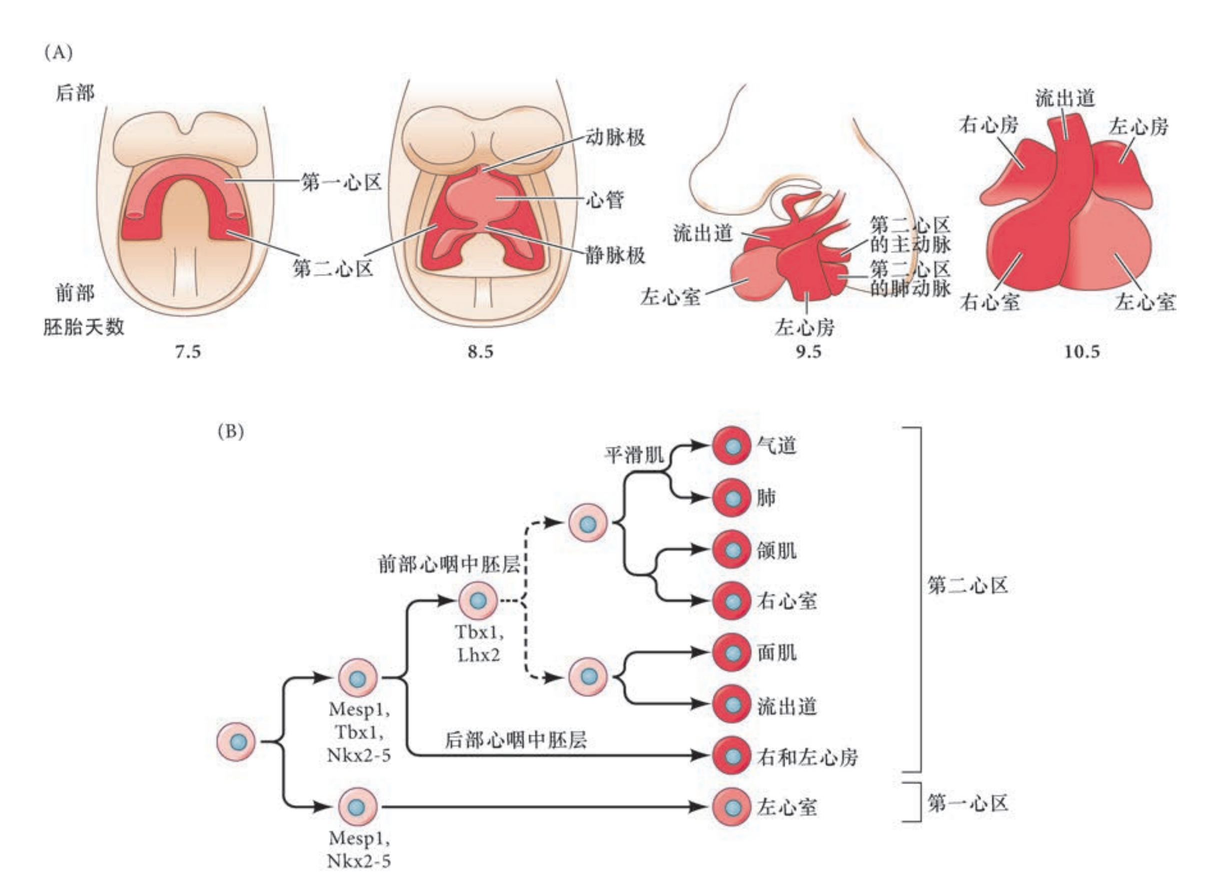


图 18.13　小鼠胚胎的心区。(A) 在第 7.5 天的胚胎中，每一侧的心区联结成一个含有第一心区和第二心区的共同心脏新月。第一心区主要形成左心室。在第 10.5 天，第二心区形成其他三个区室，即右心室和左右心房，以及最初包括主动脉与肺动脉的流出道。(B) 一种可能的谱系树显示第一心区和第二心区协同形成心脏，以及第二心区中心脏、肺和肺血管细胞的混合。虚线标示肺、肺动脉、面肌和心脏细胞的祖细胞产生分离的确切位置目前还不清楚。在这些祖细胞的下方列出了与它们相关的部分转录因子 (A 图参考 Kelly 2012；B 图参考 Diogo et al. 2015 和 Peng et al. 2013)。

形成瓣膜的**心内膜垫 (endocardial cushion)**、形成滋养心脏的冠状血管的**心外膜 (epicardium)**，以及形成协调心跳的**浦肯野纤维**[2] (**Purkinje fiber**)，都是来自这些心区[3] (Mikawa 1999；van Wijk et al. 2009)。而且，我们稍后将会讨论，每一个祖细胞似乎都能够形成任何一种分化的心脏细胞类型。心脏前体细胞将被心脏神经嵴细胞补充；这些神经嵴细胞帮助形成流出道，以及分隔主动脉和肺动脉的隔膜 (见图 15.22；Porras and Brown 2008)。

18.2.1.3　生心中胚层的特化

生心中胚层细胞通过它们与咽内胚层和脊索的相互作用而受到特化。如果去除前部内胚层，心脏便不能形成，而后部内胚层不能诱导心脏细胞的形成 (Nascone and Mercola 1995；Schultheiss et al. 1995)。来自前部内胚层的一些骨形态发生蛋白 (尤其是骨形态发生蛋白 -2) 促进心脏和血液的发育。内胚层来源的骨形态发生蛋白还在紧位于生心中胚层下部的内胚层中诱导成纤维细胞生长因子 -8 的合成，并且这个因子似乎对心脏蛋白的表达至关重要 (Alsan and Schultheiss 2002)。

一些抑制性信号阻止心脏结构在不应该出现的位置形成。首先，脊索分泌的头蛋白和 Chordin 在胚胎

---

[2] 这些特殊的心肌神经纤维与第 13 章提到的小脑浦肯野神经元不同。两者都是以 19 世纪捷克解剖学家和组织学家 Jan Purkinje 的名字而命名的。

[3] 也许存在一个更向后部延伸的第三心区 (Bressan et al. 2013)。在鸡胚胎中，这个第三心区含有产生起搏心肌细胞的细胞，这些细胞刺激心肌的节律性收缩。

的中央阻断骨形态发生蛋白信号，生肌节中分泌头蛋白的特定细胞阻止体节被特化成心脏细胞。其次，来自神经管的 Wnt，尤其是 Wnt3a 和 Wnt8，抑制心脏的形成但促进血液的形成。此外，前部内胚层产生一些 Wnt 抑制物，如 Cerberus、Dickkopf 和 Crescent，阻止 Wnt 结合它们的受体。通过这种方式，心脏前体细胞在骨形态发生蛋白（来自侧板中胚层和内胚层）和 Wnt 抑制物（来自前部内胚层）相重叠的位置被特化（**图 18.14A**；Marvin et al. 2011；Schneider and Mercola 2001；Tzahor and Lassar 2001；Gerhart et al. 2011）。

没有 Wnt 信号时，骨形态发生蛋白激活 ***Nkx2-5*** 和 ***Mesp1***，这两个基因在特化心脏细胞的调控网络中起关键作用（**图 18.14B**）。在所有物种，*nkx2-5* 基因对心脏发育的作用都是保守的（Komuro and Izumo 1993；Lints et al. 1993；Sugi and Lough 1994；Schultheiss et al. 1995；Andrée et al. 1998）。在果蝇，*nkx2-5* 基因的同源物被称为 *tinman*（铁匠），因为它的功能缺失突变体没有心脏。Nkx2-5 也能下调骨形态发生蛋白，在早期心脏细胞的发育中，它限制形成心区的心脏细胞前体的数量。如果在那些注定形成心室（表达骨形态发生蛋白 -10）的细胞中特异地敲除 *nkx2-5* 基因，会导致心室的严重过度生长，致使心室充满肌细胞（Pashmforoush et al. 2004；Prall et al. 2007）。

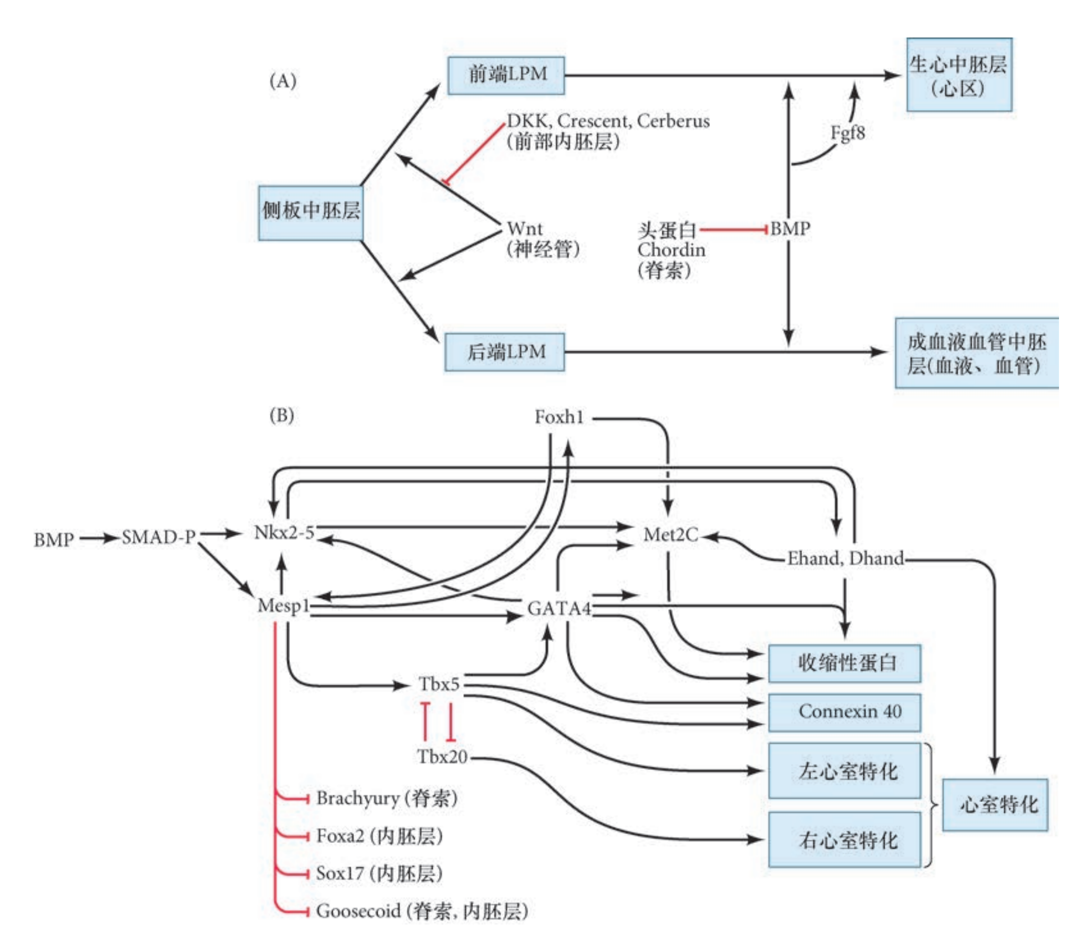


图 18.14 骨形态发生蛋白（BMP）和 Wnt 途径的诱导性相互作用形成生心中胚层边界的模型。(A) 来自神经管的 Wnt 信号指令侧板中胚层形成血细胞和血管的前体。在身体的前部，来自咽部内胚层的 Wnt 抑制物（Dickkopf、Crescent、Cerberus）阻止 Wnt 发挥功能，使后续的信号，如骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8），能将侧板中胚层（LPM）转变成生心中胚层。骨形态发生蛋白信号对成血液血管（血液、血管）中胚层的分化也有重要作用。在胚胎的中央，来自脊索的头蛋白和 Chordin 信号阻断骨形态发生蛋白。因此，形成心脏和血液的区域不会出现在胚胎的中央。(B) 骨形态发生蛋白信号在脊椎动物心脏启动基因调控网络的模型。骨形态发生蛋白信号激活 Nkx2-5 和 Mesp1 这两个关键开关。这些转录因子协同作用，激活众多的心脏形成基因。Mesp1 也抑制那些将细胞特化为其他命运的基因。图中还显示出 Tbx20（右侧）和 Tbx5（左侧）之间的相互拮抗作用。这个模型并不完善，因为新的染色质免疫共沉淀及测序技术已经鉴定出数千个在心脏发育不同时期被激活的启动子（A 图参考 Davidson 2006；B 图参考 May et al. 2012）。

另一个被骨形态发生蛋白激活的基因是 *Mesp1*[4]。Mesp1 和 Nkx2-5 蛋白协同激活一些特化心脏的基因。Mesp1 也能阻止心脏祖细胞被重新特化为其他中胚层类型。首先，它在心脏祖细胞中激活 *dickkopf* 基因（David et al. 2008），从而阻止 Wnt 将这些细胞转变成血管细胞。其次，Mesp1 抑制 *brachyury*、*sox17* 和 *goosecoid* 基因，从而阻止心脏前体细胞变成内胚层、体节或脊索（Bondue and Blanpain 2010）。Mesp1 也促进一些基因的表达，这些基因的产物促进细胞迁移，一旦生心前体细胞被定型变成心脏，细胞就迁移到中线而形成心管（Lazic and Scott 2011）。

18.2.1.4　心脏前体细胞的迁移

预定心脏细胞在外胚层和内胚层之间向胚胎中部迁移时，它们一直与内胚层表面保持紧密接触（Linask and Lash 1986）。在鸡胚胎中，这种迁移的方向性似乎受前肠内胚层的引导。如果将心脏区域的内胚层相对于胚胎的其他部分进行旋转，生心中胚层细胞的迁移就会被逆转。调节这一运动的内胚层成分被认为是纤连蛋白的前后浓度梯度。纤连蛋白的抗体能终止这种迁移，而其他细胞外基质成分的抗体没有作用（Linask and Lash 1988）。

这种运动产生了两个群体的迁移性心脏前体细胞，一个位于胚胎的右侧，另一个位于左侧。每一侧都有自身的第一心区和第二心区，并且每个群体也开始形成自身的心管。在鸡胚胎中，这些心区大约在第 7 体节期被汇聚在一起，这时胚脏壁的内折形成了前肠。这个运动将两个心管放置在一起（Varner and Taber 2012）。两个心内膜管短暂地处在一个共同的管内，但最终这两个管也融合在一起。心脏的两侧来源可以通过手术性阻止侧板中胚层的合并而予以证明（Gräper 1907；DeHaan 1959）。这种操作导致一种被称为**心脏断裂**（**cardia bifida**）的状态，在身体每一侧形成两个独立的心脏（**图 18.15A**）。因此，内胚层特化心脏祖细胞，为它们的迁移提供方向性，并通过机械作用将两个心区拉到一起。

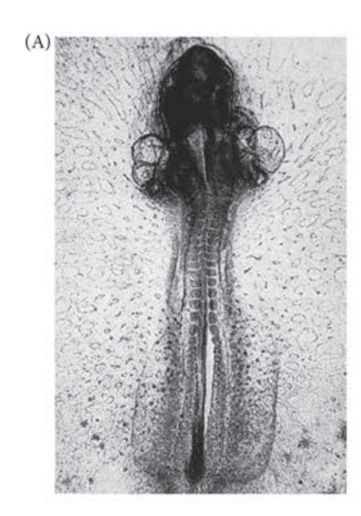
尽管鸡胚胎是一个很好的手术操作模型，但小鼠和斑马鱼的胚胎更适于遗传操作。在斑马鱼中，心脏前体细胞从侧缘向中线活跃迁移。多种影响内胚层分化的突变都会干扰这一过程，说明内胚层对心脏前体的特化和迁移至关重要，这与鸡胚胎中的情况一样。编码 GATA5 蛋白的 *faust* 基因表达在内胚层，并且对心脏前体细胞向中线迁移及它们的分裂和特化都是必需的。它似乎对启动斑马鱼 *nkx2-5* 基因在心脏前体细胞中激活的途径有重要作用（Reiter et al. 1999）。另一个特别有意思的斑马鱼突变体是 *miles apart*。它的表型仅限于心脏前体向中线迁移的缺陷，很像鸡胚胎中实验操作所造成的心脏断裂（**图 18.15B，C**）。突变体中的细胞分化不受影响；鱼仍然形成两个正常的心管，但这两个心管不能与血管正确连接，因此无法支持血液循环。*miles apart* 基因编码一个调节心脏细胞与纤连蛋白相互作用的蛋白质，表达在中线两侧的内胚层（Kupperman et al. 2000；Matsui et al. 2007）。

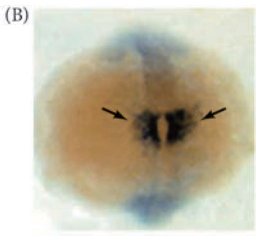
在小鼠中，内胚层表达的一些基因发生突变时也能导致心脏断裂。其中一个基因 *Foxp4*，编码一个转录因子，沿着生心前体细胞向中线迁移的路径表达在早期前肠细胞。在这些突变体中，每个心脏原基都独立发育，因此这种小鼠胚胎具有两个心脏，位于身体的每一侧（**图 18.15D，E**；Li et al. 2004）。

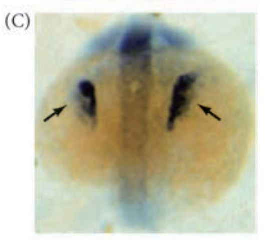
然而，随着第一心区的细胞沿着内胚层迁移形成心管，第二心区的细胞仍保持与咽内胚层的接触。在这里它们被一些旁分泌因子（可能是 Sonic hedgehog、成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt）共同维持在增殖状态（Chen et al. 2007；Lin et al. 2007）。第二心区的细胞能通过它们所表达的转录因子 Islet1 被区分出来，这些细胞也开始合成和分泌成纤维细胞生长因子 -8，以自分泌的方式刺激细胞迁移并添加到第一心区祖细胞形成的心管的前部和后部（Park et al. 2008）。第二心区的前部参与形成右心室和流出道，而它的后部则形成心房（Zaffran et al. 2004；Verzi et al. 2005；Galli et al. 2008）。

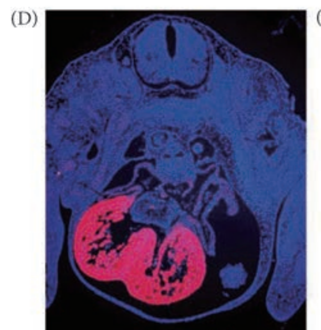
---

[4] *Mesp1* 是 *Mesp2* 的近亲，Mesp2 指令体节发生（见第 17 章）。被囊动物（见第 10 章）只有一个 *Mesp* 基因，如脊椎动物中的情况一样，它通过激活 *Nkx* 和 *Hand* 基因而特化心脏发育（Satou et al. 2004）。骨形态发生蛋白通过诱导 Eomesodermin 的表达而间接激活 *Mesp1*。Eomesodermin 是一个对内胚层和中胚层谱系都很重要的转录因子。在小鼠早期胚胎的上胚层（具有低量的 Nodal），Eomesodermin 激活 *Mesp1*。在后期，随着原条的伸长，Eomesodermin 与 Nodal 共同作用，激活参与特化定型内胚层的转录因子 Sox17 和 Foxa2（Costello et al. 2011）。







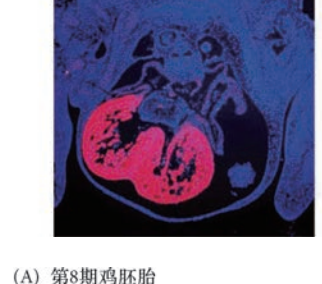




袖珍指南

脊椎动物的心脏在发育早期开始发挥作用，正如早期鸡胚胎的视频显示的那样。

图 18.15 心脏原基的迁移。(A) 鸡胚胎中的心脏断裂（两个心脏），这是通过手术切割腹侧中线，阻止两个心脏原基的融合而造成的。野生型斑马鱼 (B) 和 *miles apart* 突变体 (C)，用心脏肌球蛋白轻链的探针染色。在 *miles apart* 突变体中没有发生迁移。(D) 用心室肌球蛋白的反义 RNA 探针染色小鼠心脏，显示第 13.5 天的野生型胚胎中心脏原基发生了融合。(E) 缺失 Foxp4 的小鼠胚胎中的心脏断裂。有意思的是，每一个心脏都有心室和心房，它们都进行了成环并形成了具有正常的左右不对称性的全部四个区室（A 图由 R. L. DeHaan 提供；B 图 C 图来自 Kupperman et al. 2000，由 Y. R. Didier 提供；D 图 E 图来自 Li et al. 2004，由 E. E. Morrisey提供 ）。



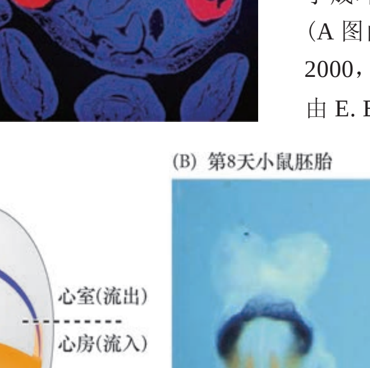


图 18.16 双色原位杂交显示编码视黄酸合成酶的视黄醛脱氢酶 -2 的基因（橙色），以及早期心区标记物 Tbx5 的基因（紫色）的表达。在这里显示的发育时期，心脏前体细胞被暴露于剂量逐渐增高的视黄酸。(A) 第 8 期的鸡胚胎 (26 ～ 29 h)。(B) 第 8 天的小鼠胚胎（来自 Simões-Costa et al. 2005，由 J. Xavier-Neto 提供）。

随着第二心区前体细胞的迁移，其后部区域开始接触后部中胚层所产生的高浓度视黄酸。视黄酸对这些后部前体细胞的特化有关键的作用，能使它们变成心脏的流入或“静脉”部分，即静脉窦和心房。最初，这些命运并没有被决定，因为移植或旋转实验表明这些前体细胞可以根据新的环境进行调节和分化。然而一旦后部心脏前体细胞进入活跃合成视黄酸的区域，它们便开始表达视黄醛脱氢酶的基因，然后产生自身的视黄酸，这时它们的后部命运就被定型（图 18.16；Simões-Costa et al. 2005）。

如肾发育一样，视黄酸调控同源异形基因（尤其是 *Hoxa1*、*Hoxb1* 和 *Hoxa3*）的表达，这些基因似乎在第二心区的前体中促进区域性特征 (Bertrand et al. 2011)。在小鼠，流出道区域及进入第二心区的这个区域的心脏神经嵴细胞，根据它们所接触的视黄酸剂量，呈现差异性的同源异形基因表达 (Diman et al. 2011)。视黄酸将心脏前体特化和定型成心房的这种能力也解释了它对心脏发育的致畸作用，暴露于视黄酸的脊椎动物胚胎以心室组织为代价扩张心房组织 (Stainier and Fishman 1992；Hoxhgreb et al. 2003)。

网络话题 18.2 **心脏的融合和最初的心跳** 鸡心脏在成对的原基正在融合时便开始搏动。分离的胚胎心脏细胞在培养皿中也会跳动。

18.2.1.5　心脏细胞的初始分化

心脏发育的最重要发现之一是证明了不同的心脏细胞，如心室肌细胞、心房肌细胞、产生静脉和动脉脉管系统的平滑肌、心脏和瓣膜的内皮细胞衬壁，以及形成心脏包膜的心外膜，都来源于相同的祖细胞类型（Kattman et al. 2006；Moretti et al. 2006；Wu et al. 2006）。心区含有局限性多能祖细胞。的确，一个早期的祖细胞群体似乎承担了形成整个循环系统的责任（图 18.17；Anton et al. 2007）。在一些影响下，它的后代变为**成血液血管细胞**（**hemangioblast**），也就是那些形成血管和血细胞的细胞；在心区，其后代形成**局限性多能心脏前体细胞**（**multipotent cardiac precursor cell**）。研究人员提出了一些略为不同的产生这些细胞的信号途径，但这些差异可能取决于心脏前体细胞根据它们所处的微环境而进行分化的能力（Linask 2003）。

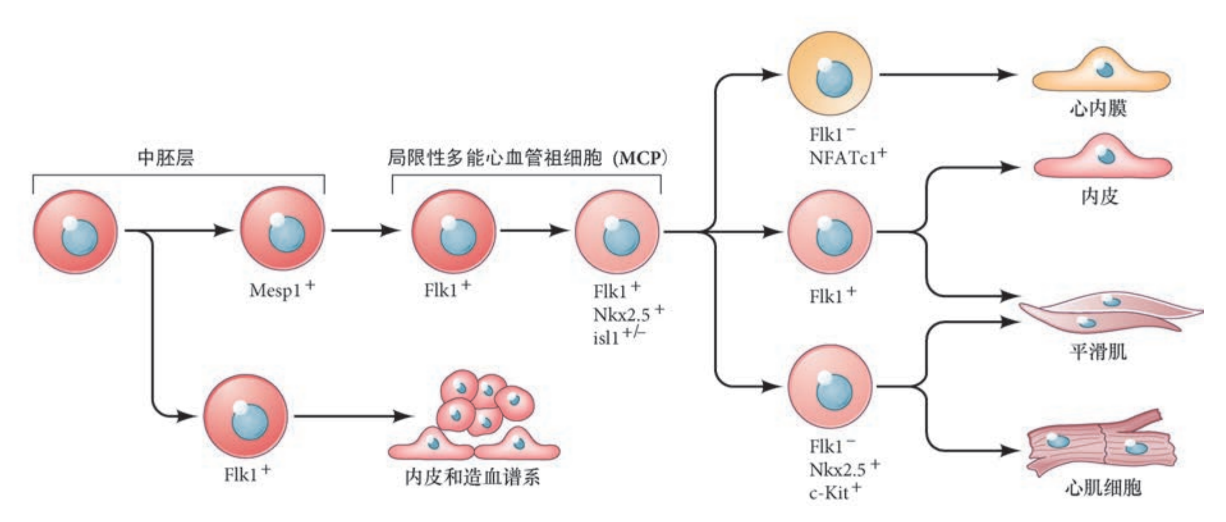


图 18.17　早期心血管谱系的模型。脏壁中胚层产生两个谱系，它们的细胞膜上都表达胎肝激酶 -1（血管内皮生长因子的一个受体）。较早期的群体产生成血管细胞（血细胞和血管的前体），而较晚期的群体产生心脏前体细胞。这个较晚期群体转而产生各种相互关系还不清楚的细胞类型；但是，心脏的所有细胞类型都可以追溯到心脏前体细胞（参考 Anton 2007；DeLaughter et al. 2011）。

多种蛋白质在心脏发育的很早期就已经表达（见图 18.14B）。Nkx2-5 和 Mesp1 对启动一个自维持的基因调控网络也有关键作用。这个网络的活跃基因之一编码转录因子 GATA4，在鸡和小鼠胚胎的前心脏细胞从原条出现时就开始表达。GATA4 对激活很多心脏特异性基因及神经钙黏素基因的表达是必需的，神经钙黏素对心脏上皮的形成及两个心脏原基融合成一个心管有关键作用（Linask 1992；Zhang et al. 2003）。

除了激活一组核心的心脏形成基因以外，Mesp1 还在胚胎两侧的心区帮助激活不同的蛋白质合成图式。Mesp1 和 Nkx2-5 指令第二心区的细胞表达 *Foxh1* 基因，这个基因能将这些心脏前体细胞定型成右心室和流出道（von Both et al. 2004）。在第一心区，Mesp1 激活 *Tbx5* 基因，这个基因的产物对心管和左心室的发育至关重要（见图 18.16；Koshiba-Takeuchi et al. 2009）。在这些早期细胞中，Tbx5 与 GATA4 和 Nkx2-5 共同激活众多参与心脏特化的基因。在后期，Tbx5 的表达被限制在心房和左心室。室间隔（分隔左右心室的壁）是形成在表达和不表达 Tbx5 的细胞之间的边界。Tbx5 对表达在右心室的 Tbx20 有拮抗作用。当 Tbx5 的表达区域被异位扩张后，室间隔就会位移到这个新位置。此外，小鼠 *Tbx5* 基因的条件性敲除，即在心室发育期间特异性失活 Tbx5，产生一个缺少任何室间隔的蜥蜴样心室（Takeuchi et al. 2003；Koshiba-Takeuchi et al. 2009）。因此，Tbx5 对分隔左右心室极为重要。人类 *TBX5* 基因的突变会造成心手综合征（Bruneau et al. 2009），其特征是心脏和上肢异常。

在 3 天的鸡胚胎和第 4 周的人胚胎中，心脏是一个两室的管，一个心房接收血液，一个心室泵出血液。在鸡胚胎中，肉眼可以看到血液进入下部的区室并通过主动脉泵出的明显周期。心脏的环化将心管的初始前后极性转变为成体生物中的左 - 右极性。在这个环化结束后，注定要形成心房的心管部分便处在将变成心室的部分之前（图 18.18）。

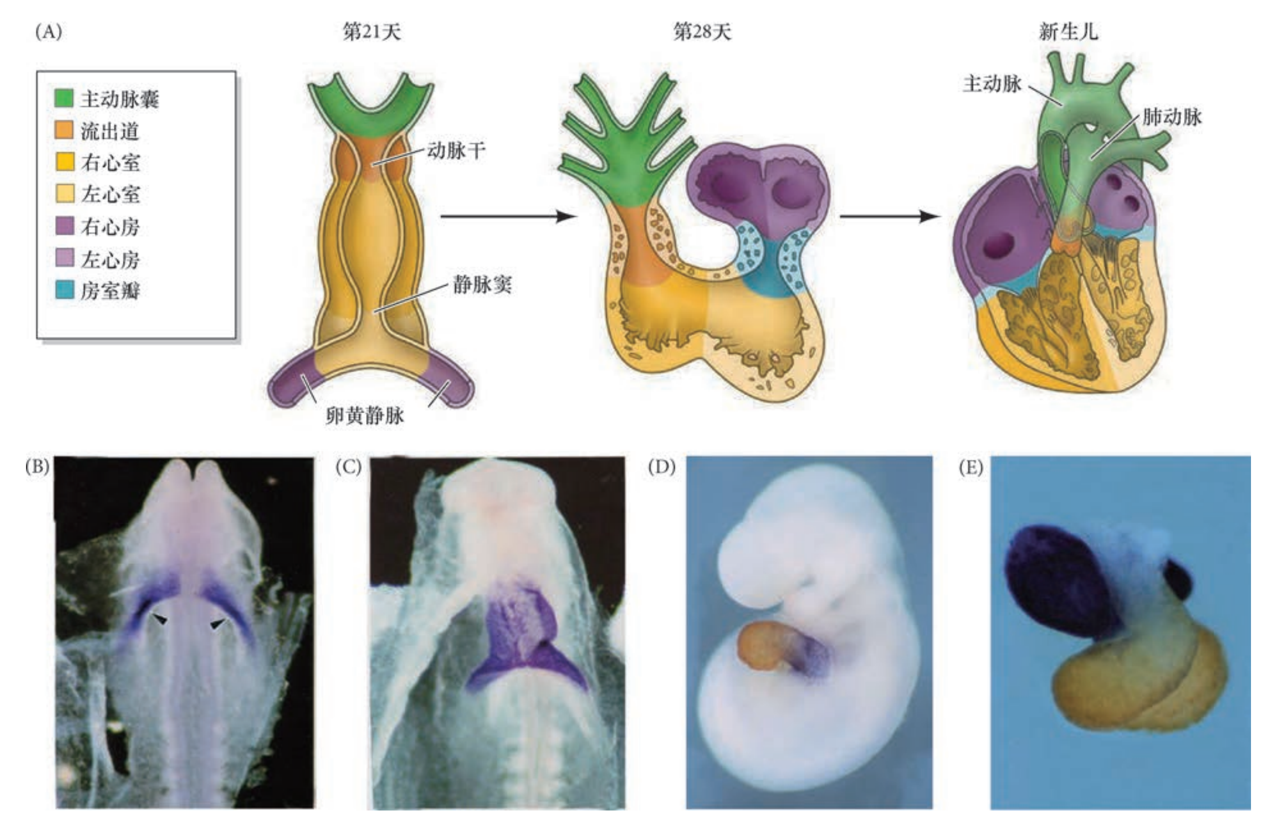


图 18.18 心脏环化和区室的形成。(A) 人的心脏形态发生示意图。在第 21 天，心脏是一个单区室的管。这个管的区域性特化以不同的颜色显示。到第 28 天，心脏已经发生环化，将预定心房置于预定心室的前部。在新生儿，瓣膜和区室建立一些环路，使左心室泵入主动脉而右心室泵入通向肺的肺动脉。(B，C) *Xin*（中文的“心”）基因在鸡的左右心脏原基融合处表达。*Xin* 的 mRNA 在注定形成心肌的细胞中被染色，它的蛋白质产物对心管环化是必需的。(B) 第 9 期的鸡神经胚，*Xin* 基因的表达（紫色）位于两个对称的心脏形成区（箭头）。(C) 第 10 期的鸡胚胎，显示环化前两个心脏形成区的融合。(D，E) 心房和心室的特化发生在心脏环化之前。小鼠胚胎的心房和心室表达不同类型的肌球蛋白；在这个图中，心房肌球蛋白被染为蓝色，心室肌球蛋白被染为橙色。(D) 在管状的心脏中（环化之前），两种肌球蛋白（以及各自的染色）在连接心脏未来区域的房室通道处重叠。(E) 环化后，蓝色染色见于定型的心房和流入道，而橙色染色见于心室。心室上部未染色的区域是动脉干，主要来源于神经嵴，动脉干被分隔成主动脉和肺动脉 (A 图参考 Srivastava and Olson 2000；B 图和 C 图来自 Wang et al. 1999，由 J. J.-C. Lin 提供；D 图和 E 图来自 Xavier-Neto et al. 1999，由 N. Rosenthal 提供）。

这个极其重要的过程起始于心脏前部对弯曲方向的特化。在节奏性心脏收缩和血液流动起始后不久便开始环化；来自血液流动的压力驱动环化的完成 (Groenendijk et al. 2005；Hove et al. 2003)。随着心管进一步弯曲，进入心脏的血液体积逐渐增加。血液体积的差异被认为通过细胞外基质和细胞骨架传递到细胞 (Linask et al. 2005；Garita et al. 2011)。精确的区室排布对正确传递心脏瓣膜（心室和心房的隔膜）形成的信号是必需的，这也使得心脏能与胚胎内同步发育的胚胎脉管系统相连接。

科学家讲座 18.1 Kersti Linask 博士讨论脊椎动物心脏的环化。

在心脏环化的同时，心内膜的变化开始形成瓣膜。心脏瓣膜发育的起始是心房和心室之间的通道及

正在环化的心管流出道内部心内膜垫的形成（Armstrong and Bischoff 2004）。心内膜垫在心肌信号使心内膜细胞表达 *Twist* 基因时开始发育。Twist 蛋白是启动上皮到间充质转换和细胞迁移的转录因子。这些心内膜细胞离开心内膜并迁移形成心内膜垫（Barnett and Desgrosellier 2003；Shelton and Yutey 2008）。Twist 还激活 Tbx20 的基因，并与 Tbx20 共同激活一些能使瓣膜增殖和强化的蛋白质。

观察发育 18.2　这个视频提供人类心脏发育的医学视野。

网络话题 18.3　**出生时改变心脏的解剖结构**　进行第一次呼吸的过程实际上改变了心脏的解剖结构，促进了肺循环。

18.2.2　血管形成

尽管心脏是身体的首个功能性器官，但它直到胚胎的血管系统建立了最初的环路后才开始泵血。血管不是从心脏芽出的，它们独立形成后不久便与心脏相连接。我们每个人的循环系统都不相同，这是因为基因组无法编码动脉与静脉之间的一系列复杂连接网络。的确，随机过程对建立循环系统的显微解剖结构有主要作用。但是，一个特定物种中的所有循环系统看起来都很相似，这是因为循环系统的发育受到生理、进化及物理等因素的严格约束。

18.2.2.1　血管发生：血管的初始形成

血管的发育通过两个在时间上独立的过程而进行（图 18.19），即**血管发生**（**vasculogenesis**）和**新血管发生**（**angiogenesis**）。在血管发生过程中，一个血管网络在侧板中胚层原发性地形成。在新血管发生过程中，

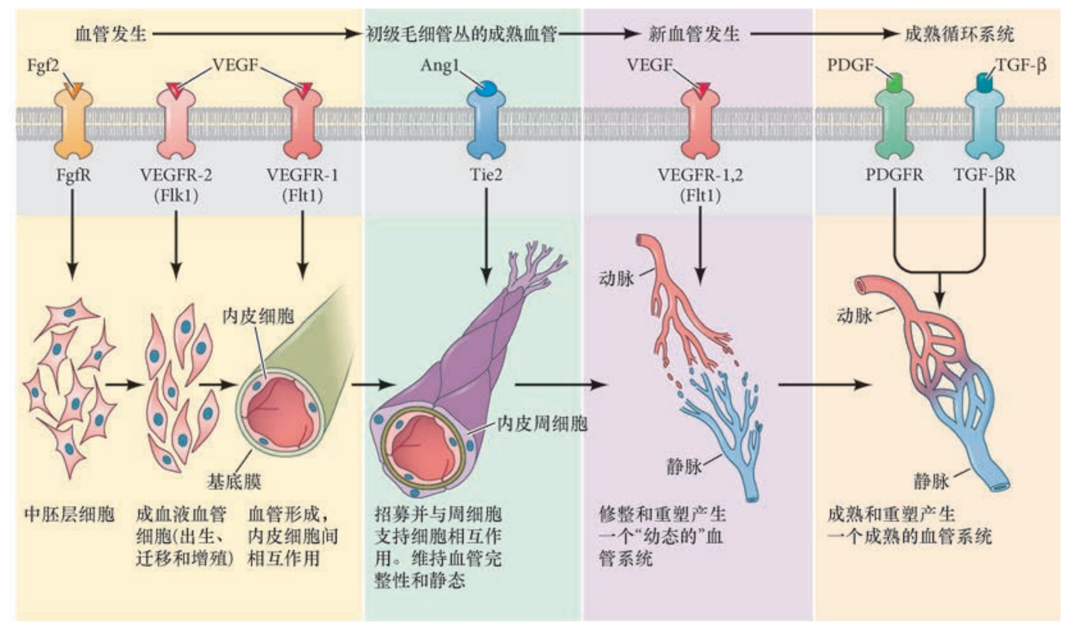


图 18.19　血管发生和新血管发生。血管发生涉及血岛的形成，以及由血岛构建的毛细血管网络。新血管发生是对原有血管进行重塑和构建而形成新的血管。新血管发生完成了血管发生所起始的循环连接。参与每个步骤的主要旁分泌因子显示在示意图的上方，它们的受体（表达在形成血管的细胞）显示在示意图的下方。Fgf2：成纤维细胞生长因子 -2；FgfR：成纤维细胞生长因子受体；VEGF：血管内皮生长因子；VEGFR-2（Flk1）：血管内皮生长因子受体 -2（胎肝激酶 -1）；VEGFR-1（Flt1）：血管内皮生长因子受体 -1（Fms 相关酪氨酸激酶 -1）；Ang1：血管生成素 -1；Tie2：血管生成素受体（免疫球蛋白和上皮生长因子同源域酪氨酸激酶）；PDGF：血小板源性生长因子；PDGFR：血小板源性生长因子受体；TGF-β：转化生长因子 -β；TGF-βR：转化生长因子 -β 受体（参考 Hanahan 1997；Risau 1997）。

初级血管网络被重塑和修整成各种毛细血管床、动脉和静脉。

在血管发生的第一阶段，骨形态发生蛋白、Wnt 和 Notch 信号的组合在离开胚胎后部原条的侧板中胚层细胞中激活转录因子 Etv2，使这些细胞转变为成血液血管细胞[5]。用荧光探针标记斑马鱼胚胎进行单细胞命运图谱分析后证实，成血液血管细胞在斑马鱼中是造血（血细胞）和内皮（血管）细胞谱系的共同祖细胞（Paik and Zon 2010）。这个双潜能的祖细胞群体仅见于主动脉的腹侧部分，这个区域已被证明能够产生这两种细胞类型。使这些动脉细胞分化为成血液血管细胞的途径似乎受 *Cdx4* 基因的诱导，而成血液血管细胞变为血细胞前体或血管前体的决定则受 Notch 信号途径的调控。Notch 信号增加成血液血管细胞向血细胞前体的转化，而 Notch 信号强度的降低则会使成血液血管细胞变成内皮细胞（Vogeli et al. 2006；Hart et al. 2007；Lee et al. 2009）。Notch 信号激活 Runx1 转录因子的表达，我们在后面就会看到，Runx1 对诱导内皮细胞转变为血干细胞的作用在整个脊椎动物中似乎都是保守的（Burns et al. 2005，2009）。

网络话题 18.4 **血管形成的限制** 不是所有类型的循环系统都具有功能，物理约束限制血管系统的类型。

血管发生的位置 在羊膜动物，初级血管网的形成发生在两个不同和独立的区域。第一，**胚外血管发生**（**extraembryonic vasculogenesis**）出现在卵黄囊的**血岛**（**blood asland**）。这是一些由成血液血管细胞形成的血岛，它们产生一些为胚胎提供滋养的早期脉管系统，以及一些在早期胚胎具有功能的红细胞群体（图 18.20A）。一些新的研究（Frame et al. 2016）显示，定型（成体）的血液干细胞也来自这些卵黄囊的血岛。第二，**胚内血管发生**（**intraembryonic vasculogenesis**）形成背主动脉，来自这条大血管的一些血管与各个器官内的中胚层细胞形成的毛细血管网相连接。如我们在第 17 章所见，背主动脉的首个支架来源于向腹部迁移的体节细胞。

卵黄囊中内皮形成细胞的聚集是羊膜动物发育的一个关键阶段，使得内衬卵黄囊的血岛能产生一些静脉，为胚胎输送养分和运输气体进出呼吸交换的位置（图 18.20B）。在鸟类，这些血管被称为**卵黄静脉**（**vitelline vein**）；在哺乳动物，它们被称为**脐肠系膜静脉**（**omphalomesenteric vein**），或更通常地被称为

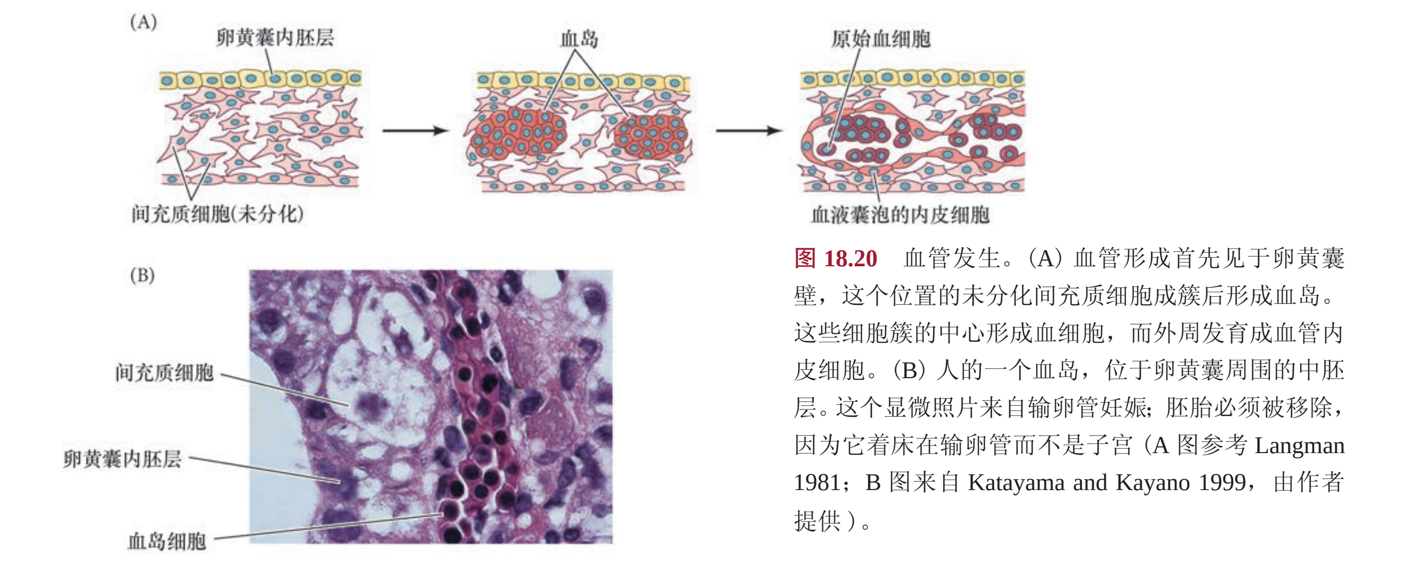


图 18.20 血管发生。（A）血管形成首先见于卵黄囊壁，这个位置的未分化间充质细胞成簇后形成血岛。这些细胞簇的中心形成血细胞，而外周发育成血管内皮细胞。（B）人的一个血岛，位于卵黄囊周围的中胚层。这个显微照片来自输卵管妊娠；胚胎必须被移除，因为它着床在输卵管而不是子宫（A 图参考 Langman 1981；B 图来自 Katayama and Kayano 1999，由作者提供）。

[5] 前缀 *hem-* 和 *hemato-* 指的是血液（如血红蛋白，hemoglobin）。类似地，前缀 *angio-* 指的是血管。后缀 *-blast* 表示快速分裂的细胞，通常指干细胞。后缀 *-poiesis* 和 *-poietic* 指产生或形成，而 *poeisis* 也是“诗”（*poetry*）的词根。因此，造血干细胞是指那些产生不同类型血细胞的细胞。拉丁语后缀 *-genesis*（如新血管发生“*angiogenesis*”中的后缀）的意思与希腊语 *-poiesis* 相同。斑马鱼造血突变体的命名经常很有诗意，大多数都是以葡萄酒命名，一个导致无血液表型的基因被命名为 *vlad tepes*，这是根据历史上有影响的吸血鬼 Vlad Dracula 而命名的。

脐静脉（**umbilical vein**）。在鸡胚胎中，血岛在原条延伸到最大长度时首先见于暗区（Pardanaud et al. 1987）。它们形成一些成血管细胞索，这些细胞索迅速变得空化并变成内衬血管的扁平内皮细胞（而中央的细胞则形成血细胞）。随着血岛的生长，它们最终合并成汇入两个卵黄静脉的毛细血管网，为新形成的心脏输送养料和血细胞。

生长因子和血管发生　三种生长因子对起始血管发生有关键作用（见图 18.19）。其中之一是**碱性成纤维细胞生长因子**（**basic fibroblast growth factor，Fgf2**），它对脏壁中胚层中成血液血管细胞的产生是必需的。鹌鹑胚盘的细胞被分离后在体外培养时，它们不会形成血岛或内皮细胞。但是，当这些细胞与成纤维细胞生长因子 -2 蛋白共同培养时，血岛就会出现并形成内皮细胞（Flamme and Risau 1992）。成纤维细胞生长因子 -2 在鸡胚胎的尿囊绒膜中合成并参与这个组织的血管化（Ribatti et al. 1995）。

参与血管发生的第二个家族的蛋白质是**血管内皮生长因子**（**vascular endothelial growth factor，VEGF**）。这个家族包括多个血管内皮生长因子，以及在胎盘中引导血管扩张性生长的胎盘生长因子（PlGF）。每个血管内皮生长因子似乎都能使成新血管细胞分化和增殖形成内皮细胞管。在正常发育中最重要的血管内皮生长因子是血管内皮生长因子 A，它被血岛附近的间充质细胞分泌，而且成血液血管细胞和成新血管细胞都表达这个因子的受体（Millauer et al. 1993）。如果小鼠胚胎缺失编码血管内皮生长因子 A 或它的主要受体（胎肝激酶 -1 受体酪氨酸激酶）的基因，卵黄囊就不能形成血岛，血管发生也无法进行（**图 18.21A**；Ferrara et al. 1996）。缺失胎肝激酶 -1 受体基因的小鼠具有血岛和分化的内皮细胞，但是这些细胞没有组织成血管（Fong et al. 1995；Shalaby et al. 1995）。血管内皮生长因子 A 对发育的骨骼和肾脏中的血管形成也有重要作用[6]。

(A)

野生型

VEGF突变

(B)



图 18.21　小鼠胚胎中的血管内皮生长因子（VEGF）及其受体。(A) 野生型和血管内皮生长因子 A 杂合突变体同窝小鼠胚胎的卵黄囊。突变体胚胎在卵黄囊中缺少血管并且死亡。(B) 在第 9.5 天的小鼠胚胎中，表达在顶端细胞的血管内皮生长因子受体 -3（红色）位于毛细血管（染为绿色）的新血管发生前沿（A 图来自 Tammela et al. 2008，由作者提供；B 图来自 Ferrara and Alitalo 1999，由 K. Alitalo 提供）。

第三组蛋白质是**血管生成素**（**angiopoietin**），介导内皮细胞和**周细胞**（**pericyte**）之间的相互作用；周细胞是一种被内皮细胞招募而覆盖内皮细胞的平滑肌细胞样细胞。血管生成素或其受体蛋白 Tie2 的突变均会导致畸形的血管，缺乏正常包裹它们的平滑肌（Davis et al. 1996；Suri et al. 1996；Vikkula et al. 1996；Moyon et al. 2001）。

网络话题 18.5　**动脉、静脉和淋巴管**　脉管组织的结构和功能在动脉、静脉，以及为全身输送淋巴的淋巴管之间存在差异。

18.2.2.2　新血管发生：血管萌芽和血管床重塑

在血管发生的初始阶段之后起始新血管发生。通过这个过程，初级毛细血管网络被重塑，静脉和动

---

[6] 成体中的血管内皮生长因子需要受到严格调控，一些研究表明它可能受饮食影响。饮用绿茶与人类癌症发病率的降低及实验室动物的肿瘤细胞生长抑制相关。Cao 和 Cao（1999）证明，绿茶及其成分之一——表没食子儿茶素 -3- 没食子酸酯（ECCG），通过抑制血管内皮生长因子而阻止新血管发生。而且，在用绿茶代替水（相当于人饮用 2～3 杯绿茶）喂养小鼠时，血管内皮生长因子刺激新血管形成的能力被降低到 50% 以上。

脉得以形成（见图 18.19）。新血管发生的关键因子是血管内皮生长因子 A（Adams and Alitalo 2007）。在很多情况下，一个器官分泌的血管内皮生长因子 A 将诱导内皮细胞从已有的血管迁移到这个器官，使内皮细胞在那里形成毛细血管网络。其他因素，包括低氧（低的氧水平），也能诱导血管内皮生长因子 A 的分泌，因此能诱导血管形成。

在新血管发生过程中，已有血管中的一些内皮细胞应答血管内皮生长因子信号，开始“出芽”形成一个新血管。这些细胞是不同于其他细胞的**顶端细胞**（**tip cell**）。如果所有内皮细胞都同样应答血管内皮生长因子信号，初始的血管就会崩溃。顶端细胞的表面表达 Notch 的配体 Delta-like-4（Dll4），Dll4 配体在邻近细胞中激活 Notch 信号，从而阻止这些细胞应答血管内皮生长因子 A（Noguera-Troise et al. 2006；Ridgway et al. 2006；Hellström et al. 2007）。如果通过实验方法降低 Dll4 的表达，顶端细胞通过应答血管内皮生长因子就会沿血管的大部分形成。

顶端细胞产生的丝足表面有密集的血管内皮生长因子受体 -2。它们还表达另一种血管内皮生长因子受体，即血管内皮生长因子受体 -3，阻断这个受体会严重抑制新血管的萌芽（**图 18.21B**；Tammela et al. 2008）。这些受体能使顶端细胞向血管内皮生长因子的源头延伸，而且细胞也沿着血管内皮生长因子的梯度进行分裂。的确，顶端细胞的丝足像神经嵴细胞和神经生长锥的丝足一样，能应答类似的信息（Carmeliet and Tessier-Lavigne 2005；Eichmann et al. 2005）。Semaphorin、神经轴突导向因子、neuropilin 及 split 蛋白都具有将萌芽过程的顶端细胞引向血管内皮生长因子源头的作用。

18.2.2.3 正常和异常发育中的抗新血管发生

与发育中任何强有力的过程一样，新血管发生必须受到强有力的调控。血管形成必须适可而止，并且在有些组织中必须阻止血管形成。例如，多数哺乳类的角膜没有血管[7]，这使角膜透明、视力敏锐。角膜似乎有两种阻止血管形成的途径。第一种机制是阻止血管内皮生长因子从储存它的细胞外基质中释放出来（Seo et al. 2012）；第二种机制是，Ambati 及其同事（2006）证明，角膜分泌一种可溶性血管内皮生长因子受体，该受体“捕捉”血管内皮生长因子，从而防止角膜进行新血管发生。

可溶性血管内皮生长因子受体似乎也是妊娠期间调节子宫内血管形成增多的正常机制之一。但是，如果妊娠期间产生过多的可溶性内皮生长因子受体，正常的新血管发生可能会显著降低。为胎儿提供营养的螺旋动脉无法形成，肾的毛细血管床也会减少。这些事件被认为是**先兆子痫**（**preeclampsia**）的主要原因，这是一种以高血压和肾滤过不良（两者都是肾的问题）及胎儿窘迫为特征的妊娠状态。先兆子痫是早产的首要因素，也是孕妇和胎儿死亡的主要原因（Levine et al. 2006；Mutter and Karumanchi 2008）。

过多的血管内皮生长因子也会导致危险。实体瘤和糖尿病患者的视网膜会出现异常的血管形成。这种血管化分别导致肿瘤细胞的生长、扩散和失明。通过靶向参与血管形成的血管内皮生长因子受体和 Notch 途径，研究人员正在寻找阻断新血管发生和阻止癌细胞或视网膜被血管化的方式（Miller et al. 2013；Wilson et al. 2013）。

18.2.3 血细胞发生：干细胞和持久祖细胞

每天，我们都会失去并替换大约 3000 亿个血细胞。随着血细胞在脾中被破坏，它们的更新来自一些干细胞群体。如我们在第 5 章所述，干细胞能够广泛增殖，既能产生更多的干细胞（自我更新），也能产生分化的细胞后代（见图 5.1 和图 5.3）。在**血细胞发生**（**hematopoiesis**），也就是血细胞的形成过程中，干细胞分裂产生：①更多的干细胞；②能够应答周围环境而分化成大约十几种成熟血细胞类型的祖细胞

---

[7] 海牛是已知的唯一具有血管化角膜的哺乳动物，后来发现这个例外证明了这个规则，即海牛的角膜不表达可溶性血管内皮生长因子受体。海牛的近亲（儒艮和大象）的确表达这个受体，所以它们的角膜没有血管（Ambati et al. 2006）。这种相关分类单元之间的形态差异为可溶性血管内皮生长因子防止角膜血管化的重要性提供了进一步的证据。

(Notta et al. 2016)。血细胞发生的关键干细胞是**多能造血干细胞**(**pluripotent hematopoietic stem cell**),或简称**造血干细胞**(**hematopoietic stem cell**,HSC),它们能产生体内所有的血细胞和淋巴细胞。造血干细胞通过产生潜能被局限于某些谱系的一系列中间祖细胞而达到这个目的。

18.2.3.1　血细胞发生的位置

在 20 世纪初,很多研究人员(通过研究很多不同的脊椎动物物种,包括猿、蝙蝠和人)观察到血细胞来自主动脉的腹侧内皮(Adamo and Garcia-Cardeña 2012)。但是,到 20 世纪 60 年代,在小鼠中的实验证明所有造血干细胞都来自卵黄囊周围的胚外血岛中的细胞。主动脉的血细胞发生被认为是干细胞在前往脾和骨髓(小鼠成体中血细胞发生的位置)的途中所产生的一个中间站。

然而,在 1975 年,Françoise Dieterlen-Lièvre 将早期鸡胚胎的卵黄囊移植到第 2 天(循环前)的鹌鹑胚胎。鸡和鹌鹑的血细胞很容易在显微镜下被区分开来,并且嵌合体动物也能存活下来。Dieterlen-Lièvre 的分析表明,晚期鹌鹑胚胎的所有血细胞都来源于宿主鹌鹑,而不是来自移植的鸡卵黄囊。而且,胚胎内的血细胞发生活动仅局限于一个主要的位置——主动脉的腹侧部分(Dieterlen-Lièvre and Martin 1981)。将来自一种遗传变异体小鼠的**主动脉 - 生殖腺 - 中肾区**(**aorta-gonad-mesonephros region,AGM region**)的胚脏壁移植到另一个小鼠后证实,哺乳动物中永久的血细胞生成也发生在胚胎内部(Godin et al. 1993;Medvinsky et al.1993)。此后不久,造血干细胞在第 10.5 天的小鼠胚胎主动脉腹侧区域的一些细胞簇中被鉴别出来(Cumano et al. 1996;Medvinsky and Dziermak 1996)。

尽管有证据表明成体小鼠保留一些卵黄囊造血干细胞(Samokhvalov et al. 2007;Frame et al. 2016),但通常认为哺乳动物的卵黄囊造血干细胞产生一些将氧运送到早期胚胎的血细胞,而成体中几乎所有的干细胞都是已经从主动脉 - 生殖腺 - 中肾区迁移到骨髓的那些细胞(Jaffredo et al. 2010)。

在 2009 年,多个实验室提出了血细胞产生的一个新机制。这种新的假设是基于主动脉 -生殖腺 - 中肾区中发现的一种新细胞类型,即**造血内皮细胞**(**hemogenic endothelial cell**)[8]。回想一下第 17 章关于体节的讨论,生骨节产生一些迁移到背主动脉并取代大部分初级背主动脉细胞的成新血管细胞。在它们被替换之前,背主动脉中来自侧板中胚层的其余的初级内皮细胞(这时位于血管的腹侧区域)产生形成血液的干细胞。这些来自血管的造血干细胞是成体中血干细胞的重要来源(见第 5 章)。通过分析血管内皮产生的细胞类型,研究人员能够分离造血内皮细胞,并证明它们产生一些迁移到肝和骨髓的造血干细胞(Eilken et al. 2009;Lancrin et al. 2009)。此外,内皮细胞向造血干细胞的转换受 Runx1 转录因子的激活所介导(图 18.22)。在缺失 *Runx1* 基因的小鼠中,血液干细胞不能在卵黄囊、脐动脉、背主动脉和胎盘血管中形成(Chen et al. 2009;Tober et al. 2016)。

Runx1 基因似乎受一个复杂和动态的回路调控。而且,Runx1 蛋白直到心脏开始跳动后才开始表达。如果心脏的一些突变阻止液体流过主动脉,Runx1 就不能表达。相反地,液体流动产生的剪应力(即摩擦力)对 *Runx1* 基因在背主动脉腹侧内皮细胞中的激活是必需的(Adano et al. 2009;North et al. 2009)[9]。剪应力似乎在内皮细胞中升高一氧化氮的水平。一氧化氮进而激活(可能通过环鸟苷酸)*Runx1* 基因和其他对血细胞形成至关重要的基因。从造血内皮细胞向造血干细胞的转换似乎不取决于不对称细胞分裂。相反,有一个细胞骨架和紧密连接的重排,类似于生骨节或生皮肌节中的上皮到间充质转换(Yue et al. 2012)。

在非羊膜类脊椎动物中,胚脏壁也是造血干细胞的来源,骨形态发生蛋白在所有研究过的脊椎动物中对

---

[8] 造血内皮细胞与成血液血管细胞的关系仍存在争议。通常认为成血液血管细胞产生造血内皮细胞(见 Ueno and Weissman 2010),并且成血液血管细胞是造血内皮的前体。

[9] 生物物理力(如血液流动产生的剪应力)的机械力转导在心血管发育中起主要作用(见 Linask and Watanabe 2015)。回顾一下,机械力转导对心脏的正常发育(Mironov et al. 2005)和血管的正确图式化(Lucitti et al. 2007;Yashiro et al. 2007)也是必需的。血小板前体细胞(巨核细胞)碎裂形成血小板也需要机械力转导。骨髓中的巨核细胞将小的突出插入干细胞微环境周围的血管,那里的剪应力将这些突出碎裂成血小板(Junt et al. 2007)。

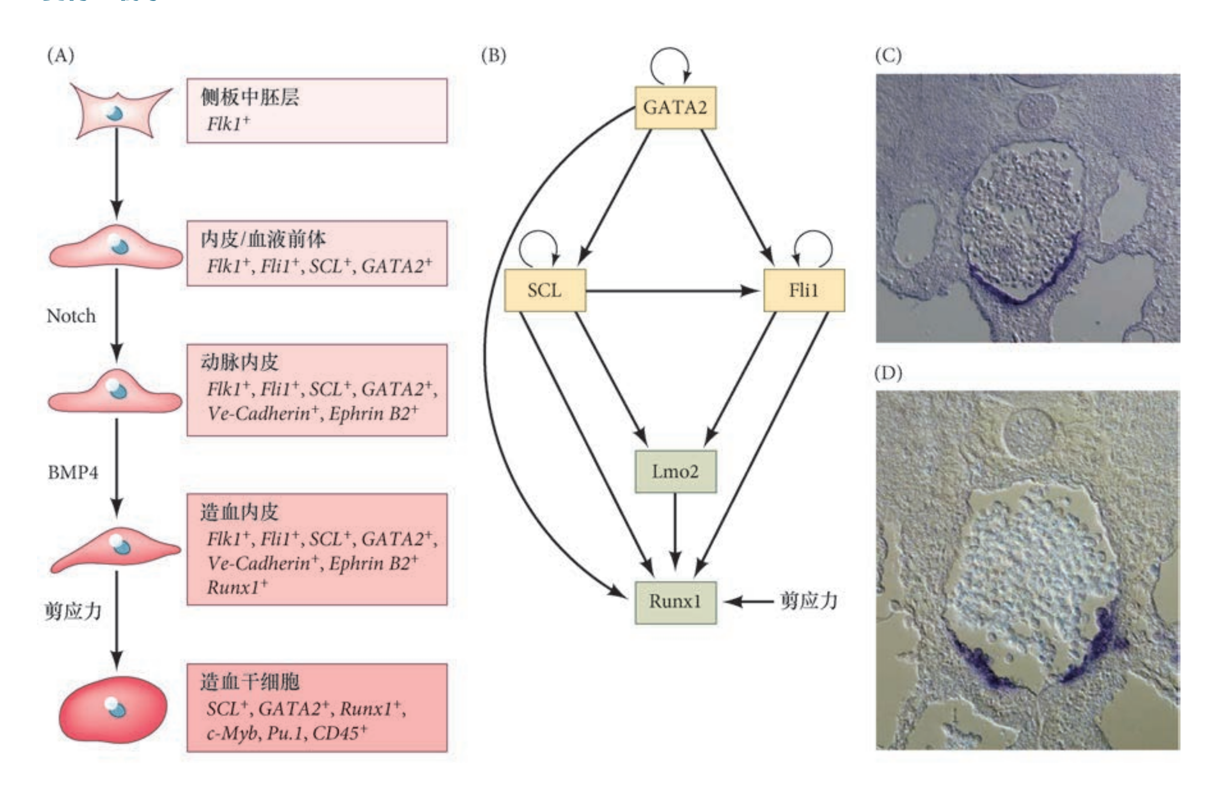


图 18.22 造血干细胞形成的途径。(A) 在发育的小鼠中，造血干细胞来自主动脉的造血内皮。Runx1 对内皮细胞向血液干细胞的转变至关重要。图中显示造血内皮的侧板中胚层来源，以及诱导这些细胞命运的近分泌和旁分泌因子。与每个阶段相关的转录因子显示在图的右侧。(B) 在建立小鼠造血干细胞的基因调控网络中激活 *Runx1* 基因的一些因子的简略示意图。转录因子 GATA2、Fli1 和 Scl 在 *Runx1* 转录起始位点下游 23 个碱基对的一个增强子上结合相邻的位点。Scl 对阻止血液和血管细胞变成心肌至关重要。剪应力通过机械力转导而激活 *Runx1* 的机制还不清楚。(C) 第 19 期鸡胚胎中 Runx1 的表达（紫色）；表达 Runx1 的细胞已经变成血管的一部分。(D) 第 21 期鸡胚胎中表达 Runx1 的细胞。可观察到造血细胞集落。BMP4：骨形态发生蛋白 -4；Ve-Cadherin：血管内皮钙黏着蛋白；Ephrin B2：肝配蛋白受体 B2（A 图参考 Swiers et al. 2010；B 图参考 Pimanda and Göttgens 2010；C 图和 D 图来自 Jaffredo et al. 2010）。

诱导血液形成细胞有关键作用。在非洲爪蛙，腹部中胚层形成一个大的血岛，是血细胞发生的第一个位置。在非洲爪蛙中异位表达骨形态发生蛋白 -2 和骨形态发生蛋白 -4 能诱导血细胞和血管的形成，而干扰骨形态发生蛋白信号则阻止血液形成（Maéno et al. 1994；Hemmati-Brivanlou and Thomsen 1995）。在斑马鱼，卵黄囊和主动脉都是血细胞发生的位置。与哺乳动物胚胎中的情况一样，第二波血细胞发生来自主动脉。造血干细胞来源于主动脉腹侧的内皮细胞（Bertrand et al. 2010；Kissa and Herbomel 2010），而且，激活 Runx1 表达的相同遗传途径（包括骨形态发生蛋白）调节永久性的第二波血细胞发生（Mullins et al. 1996；Paik and Zon 2010）。

18.2.3.2 骨髓造血干细胞微环境

主动脉造血干细胞产生的造血干细胞首先驻留在肝，然后进入骨髓（Coskun and Hirschi 2010）。在人类，主动脉大约在第 27 ～ 40 天产生血细胞（Tavian and Péault 2005）。骨髓造血干细胞是一种非凡的细胞，因为它是血细胞（红细胞）、白细胞（粒细胞、中性粒细胞和血小板）、单核细胞（巨噬细胞和破骨细胞）及淋巴细胞的共同前体。如果将造血干细胞移植到受辐射的近交系小鼠（与供体细胞的遗传背景完全相同，并且这种小鼠自身的干细胞已被辐射去除），它们能重建小鼠所有的血液和淋巴细胞类型。据估计，每 10 000 个血细胞中大约只有一个多能性造血干细胞（Berardi et al. 1995）。在人类，“骨髓移植”被用来将健康的造血干细胞转移到淋巴细胞、红细胞或白细胞被疾病、药物或者辐射摧毁的患者体内。近年来，每年都有超过 50 000 例这样的移植（Gratwohol et al. 2010）。

造血干细胞的维持依赖于干细胞微环境，尤其取决于造血干细胞接受旁分泌因子**干细胞因子（stem**

cell factor，SCF）的能力。干细胞因子结合 Kit 受体蛋白（这种结合在精子和色素干细胞及造血干细胞中都很重要）。为了明确干细胞微环境中哪些细胞提供干细胞因子，Ding 及其同事（2012）构建了遗传重组小鼠，其中干细胞因子的基因在所有的细胞或特定的细胞中被绿色荧光蛋白的基因所取代。当微环境中所有的细胞类型都表达绿色荧光蛋白而不表达干细胞因子时，造血干细胞便会死亡。如果只在某些细胞类型中敲除干细胞因子，他们发现，在血细胞、骨细胞或骨髓间充质细胞中用绿色荧光蛋白取代干细胞因子并没有阻断造血干细胞的维持。然而，当他们在内皮细胞或包裹内皮细胞的血管周细胞中去除干细胞因子的表达时，只有极少数的造血干细胞存活下来。如果在这两种细胞类型中阻断干细胞因子的合成（其他细胞都正常），所有的造血干细胞都会死亡。因此，对造血干细胞存活所需的干细胞因子似乎主要来自血管周细胞，内皮细胞只有一部分贡献（图 18.23）。

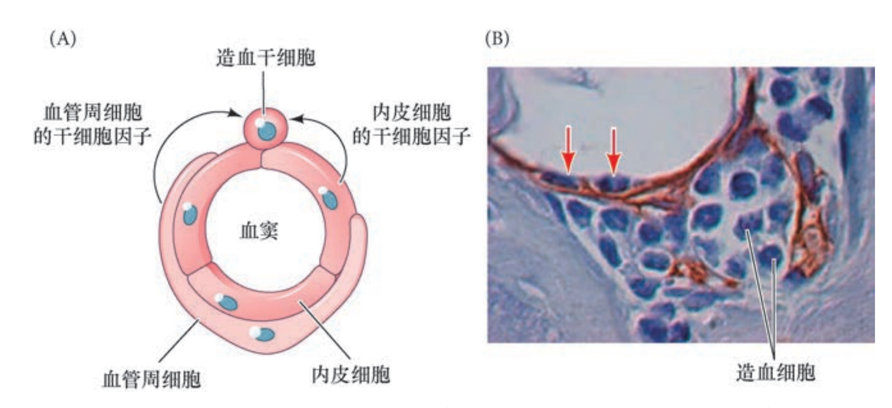


图 18.23　造血干细胞的住所似乎是一个微环境，在这里血管周（内皮下）细胞及骨髓窦的内皮细胞都产生干细胞因子。(A) 血窦的简化示意图，显示内皮细胞和一个外围的血管周细胞。(B) 人的血管周细胞（被内皮下细胞标记物蛋白 CD146 的抗体染成棕色）被植入小鼠时，一个干细胞微环境的发育。在第 8 周，血管周细胞的突出建立一些与造血干细胞的接触（如人骨髓中的情况）。红色箭显示内皮和血管周细胞之间的造血细胞（A 图参考 Shestopalov and Zon 2012；B 图来自 Sacchetti et al. 2007，由 P. Bianco 提供）。

干细胞因子并不是造血干细胞唯一需要的旁分泌因子，还有许多其他因子可能使造血干细胞能够应答一些指令细胞分化的旁分泌和近分泌因子（Morrison and Scadden 2014）。干细胞微环境通常含有持久和静态造血干细胞，用于持续产生一些祖细胞，以及一些能够应答紧急生理需求的短效造血干细胞（见图 18.24）。干细胞微环境的成骨细胞分泌非经典途径的 Wnt 以维持静态的造血干细胞，而经典的 Wnt 信号途径可能对诱导它们变成快速增殖的造血干细胞至关重要（Reya et al. 2003；Sugimura et al. 2012）。在成体哺乳动物中，数十亿血细胞的维持很可能不是依赖于少量的造血干细胞，而是依赖于稳定产生的许多持久祖细胞，它们被特化成单一谱系或者多个谱系（Sun et al. 2014）。

18.2.3.3　造血诱导微环境

关于血细胞产生的一些主要模型预示血液分化是向一系列低潜能前体细胞的过渡。潜能最大的细胞是局限性多能造血干细胞，它们可以产生更受限的局限性多能干细胞（比如共同髓系前体细胞），最后是谱系定型祖细胞。内分泌、旁分泌和近分泌因子被认为能促进血细胞向一个或另一个途径分化（图 18.24）。

红细胞生成素（**erythropoietin**）是主要的内分泌因子（即激素）之一，它似乎能使共同髓系祖细胞产生更多的巨核细胞 / 红细胞祖细胞，并使这些细胞倾向于产生更多的红细胞（Lu et al. 2008；Klimchenko et al. 2009）。参与血细胞和淋巴细胞形成的旁分泌因子是一些**细胞因子**（**cytokine**）。细胞因子可被多种细胞类型产生，但它们被造血部位基质（间充质）细胞的细胞外基质收集和浓缩（Hunt et al. 1987；Whitlock et al. 1987）。例如，粒细胞 - 巨噬细胞集落因子和多谱系生长因子白细胞介素 -3 都结合骨髓基质的硫酸乙酰肝素糖胺聚糖（Gordon et al. 1987；Roberts et al. 1988）。然后，细胞外基质能将这些旁分泌因子以足够高的浓度呈递给干细胞，使它们与各自的受体结合。在不同的成熟阶段，干细胞变得具有应答不同因子的能力。

一个多能造血干细胞的后代所采纳的发育路径取决于它接触的生长因子，因此受基质细胞决定。Wolf 和 Trentin（1968）证明，基质细胞和干细胞之间的近距离相互作用决定了干细胞后代的发育命运。这些研究人员将一些骨髓塞置入脾中，然后将干细胞注入其中。那些驻留在脾中的共同髓系祖细胞形成一些以红细

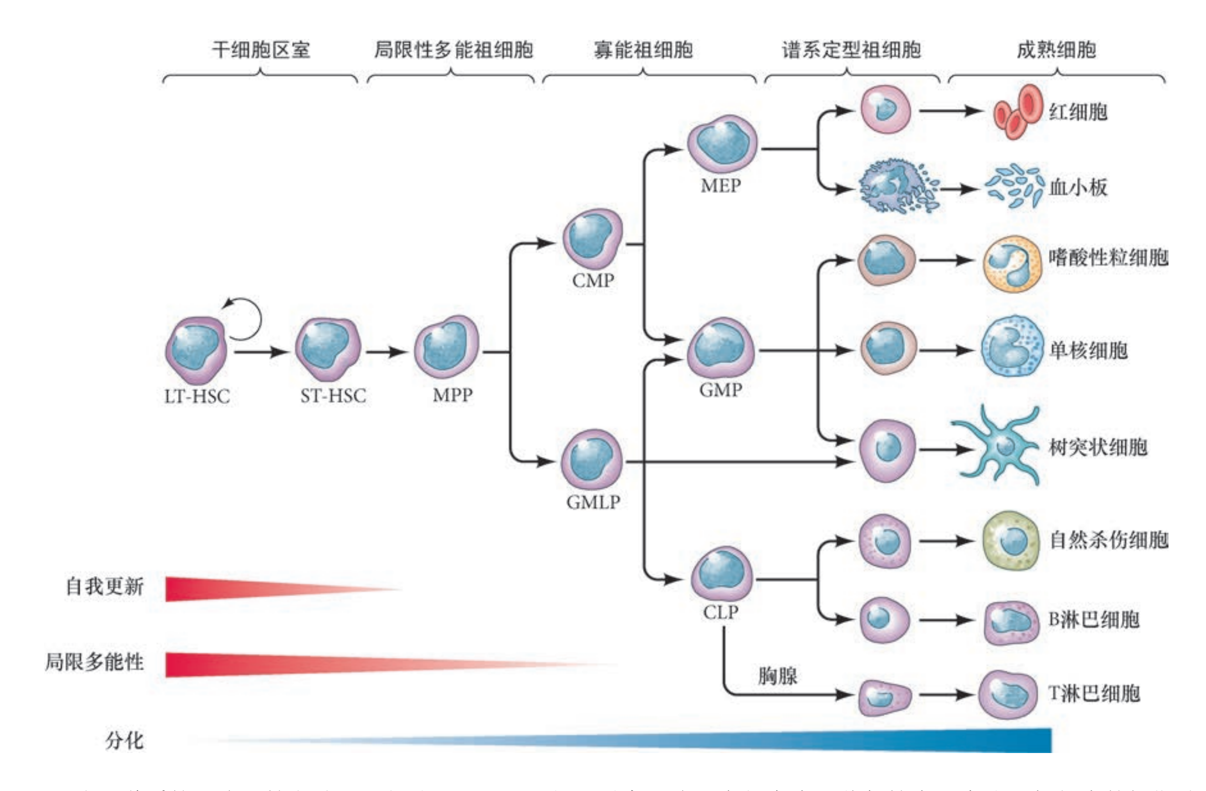


图 18.24 造血谱系的层次。持久造血干细胞（LT-HSC）位于最高层次，它们产生一些保持有限自我更新能力的短期造血干细胞（ST-HSC）（见第 5 章）。快速分裂的局限性多能祖细胞（MPP）仍然具有产生髓系（红细胞类型）或淋巴谱系（白细胞类型）的潜能，除此之外，它们的分化能力逐渐受到限制。局限性多能祖细胞的后代包括共同髓系祖细胞（CMP）和粒细胞 - 巨噬细胞 - 淋巴细胞祖细胞（GMLP）。随着进一步的分化，它们产生共同淋巴祖细胞（CLP）、粒细胞 - 巨噬细胞祖细胞（GMP）和巨核细胞 - 红细胞祖细胞（MEP）。这些祖细胞将进一步分化形成各种红细胞和白细胞类型（参考 Cullen et al. 2014）。

胞为主的集落，而那些后来驻留在骨髓的共同髓系祖细胞则形成一些以粒细胞为主的集落。对于那些跨越两种组织类型边界的集落，在脾的一侧主要是红细胞，在骨髓的一侧主要是粒细胞。这样的决定区域被称为**造血诱导微环境**（**hematopoietic inductive microenvironment，HIM**）。像预期的那样，造血诱导微环境在这些细胞中诱导不同的转录因子，而这些转录因子特化特定细胞的命运（Kluger et al. 2004）。

造血诱导微环境的转录因子能在不同的方向调节干细胞转录网络的均衡（Krumsiek et al. 2011；Wontakal et al. 2012）。通过将相互作用分解成负反馈环和前馈环（既有激活也有抑制），这个网络似乎只能有四种稳定的布局。这样的稳定布局在系统理论中被称为“吸引子状态”，对应于四种细胞类型。而且，一些能够阻止某些细胞类型分化的突变将使一些吸引子状态不能发生。

这种通过细胞类型的潜能逐渐降低的血细胞分化方案可能不会在生命过程的所有时期发挥作用。Notta 及其同事用单细胞转录组技术显示，中间水平的干细胞（如共同髓系祖细胞）在人的发育后期并不存在。有可能是，在生命的较晚期，血细胞直接由造血干细胞产生。

结束语

我们对自己的循环系统要求太多。我们在生命的每一秒钟内都需要精确的血流通过瓣膜；我们要求在我们的脑、心脏、骨髓和激素之间有一个精细协调，以保证心肌收缩适应我们的生理需求；我们要求我们的血细胞（也就是我们的胚胎中形成的前体所产生的细胞）的产生必须如此精确以至于我们既不会患癌症也不会患贫血。考虑到这一切，毫不奇怪，血细胞的分化、心脏的发育、肾的发育和血管的形成

都是目前医学科学最重要的研究领域。先天性心脏病是最常见的出生缺陷类型，心血管疾病是发达国家最常见的死亡原因。吸引亚里士多德和哈维的心脏发生、肾形成、新血管发生和血细胞发生这些问题依然在激发一些重要的研究项目。

下一步的研究

尽管只有 2% 的人类基因组编码蛋白质，但超过 75% 的基因组被转录。大部分被转录但“非编码的RNA”参与基因调控，目前正在进行的研究旨在确定这些非编码RNA如何被整合到形成器官的网络。例如，长的非编码 RNA——*Braveheart*，对 Mesp1 的表达是必需的，这有助于确定心血管谱系 (Klattenhoff et al. 2013)。一些微 RNA，如 miR-1 和 miR-133，对心肌细胞分裂的精细调控是必需的 (Philippen et al. 2015)。类似地，一些微 RNA 对肾和毛细血管的发育也至关重要 (Ho and Kriedberg 2013；Yin et al. 2014)。这些新发现的非编码 RNA 对一些引起器官发育的途径可能非常重要，对它们的干扰或它们的缺失可能是多种先天性异常和成人疾病的病因。



开篇图的思考

鸡的心脏和血管系统已经被研究了几个世纪（见图 1.4）。这个现代图像是一个描绘第 2 天鸡胚胎的荧光显微照片。它被采集于产卵后大约 45 h，此刻心脏开始跳动。通过向循环系统注射荧光珠子显示出血管系统。心脏是第一个功能性器官；然而，正如这里所看到的，大部分循环流向胚外区域，从卵黄带回养料和交换气体。心脏形成的初始事件之一是极性的建立。心房接收血液，而心室泵出血液（照片为 Vincent Pasque and Wellcome Images 版权所有）。

18 要点总结

居间中胚层和侧板中胚层

1. 居间中胚层形成肾、肾上腺和生殖腺。它通过与旁轴中胚层的相互作用而受到特化，这个特化需要 Pax2、Pax8 和 Lim1。
2. 哺乳动物的后肾通过后肾间充质和被称为输尿管芽的中肾管分支之间的相互作用而形成。输尿管芽和后肾间充质的特化依赖于它们的祖细胞接触 Wnt 和成纤维细胞生长因子信号的持续时间。
3. 后肾间充质通过表达 WT1 而具备形成肾单位的能力，并开始分泌胶质细胞源性神经生长因子。中胚层分泌的胶质细胞源性神经生长因子诱导输尿管芽的形成。
4. 输尿管芽分泌成纤维细胞生长因子 -2 和骨形态发生蛋白 -7，以阻止后肾间质中的细胞凋亡。没有这些因子，这个形成肾的间充质就会死亡。
5. 输尿管芽分泌 Wnt9b 和 Wnt6，这两个因子诱导具有应答能力的后肾间充质形成上皮性小管。随着它们形成这些小管，细胞开始分泌 Wnt4，促进并维持它们上皮化。
6. 侧板中胚层分成两层。背部一层是体壁中胚层，位于外胚层下部，形成胚体壁；腹部一层是脏壁中胚层，位于内胚层上部，形成胚脏壁。
7. 侧板中胚层的两层之间的空隙形成躯体腔，即体腔。

8. 心脏来自身体两侧的脏壁中胚层。这个细胞区域被称为心区，或生心中胚层。生心中胚层在没有 Wnt 信号的情况下受骨形态发生蛋白的特化。
9. 转录因子 Nkx2-5、Mesp1 和 GATA 对定型生心中胚层变成心脏细胞有重要作用。这些心脏前体细胞从两侧迁移到胚胎颈部区域的中线。
10. 胚胎的每一侧各有两个主要心区。每个心区有两个区域：第一心区形成心管支架并将形成左心室；心脏的其余部分主要由第二心区形成。
11. 一个心脏前体细胞能形成心脏的每一个主要谱系。生心中胚层形成心内膜（与血管相连）和心肌（心脏的肌肉部分）。
12. 心内膜管独立形成后再融合。心脏的环化将心管最初的前 - 后极性转变为左 - 右极性。
13. 视黄酸对决定心脏和肾的前后极性有重要作用。
14. Tbx 转录因子对特化心脏区室和建立心脏电回路尤为关键。
15. 冠状动脉和淋巴管都来自静脉的重编程。
16. 血管通过两个过程被构建，即血管发生和新血管发生。血管发生涉及脏壁中胚层细胞致密而形成血岛。这些血岛的外部细胞变成内皮（血管）细胞。新血管发生是已有血管的重塑。
17. 很多旁分泌因子对血管形成有关键作用。成纤维细胞生长因子 -2 对成新血管细胞的特化是必需的。血管内皮生长因子 A 对成新血管细胞的分化是不可或缺的。血管生成素使平滑肌细胞（以及平滑肌样周细胞）包裹血管。肝配蛋白配体及其受体酪氨酸激酶对于毛细血管床的形成有关键作用。
18. 多能性造血干细胞产生其他多能性干细胞及谱系限制性干细胞。它既产生血细胞，也产生淋巴细胞。
19. 在脊椎动物，造血干细胞被认为起源于具有血岛、背主动脉和胎盘血管特征的造血内皮细胞。永久造血干细胞似乎来自主动脉的腹侧部分。
20. 共同髓系祖细胞是一种血液干细胞，能为不同的血液谱系产生进一步定型的干细胞。造血诱导微环境决定血细胞的分化。
21. 造血干细胞依赖于干细胞因子，造血干细胞微环境中血窦的血管周细胞为造血干细胞提供这个干细胞因子。

拓展阅读

Adamo, L. and G. García-Cardeña. 2012. The vascular origin of hematopoietic cells. *Dev. Biol.* 362: 1–10.

Cooley, J., S. Whitaker, S. Sweeney, S. Fraser and B. Davidson. 2011. Cytoskeletal polarity mediates localized induction of the heart progenitor lineage. *Nat. Cell Biol.* 13: 952–957.

Diogo, R. and 7 others. 2015. A new heart for a new head in vertebrate cardiopharyngeal evolution. *Nature* 520: 466-473.

Ding, L., T. L. Saunders, G. Enikolopov and S. J. Morrison. 2012. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 481: 457–462.

Krause, M., A. Rak-Raszewska, I. Pietilä, S. E. Quaggin and S. Vainio S. 2015. Signaling during kidney development. *Cells* 4:112–132.

Morrison, S. J. and D. T. Scadden. 2014. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 505: 327– 334.

Sizarov, A., J. Ya, B. A. de Boer, W. H. Lamers, V. M. Christoffels and A. F. Moorman. 2011. Formation of the building plan of the human heart: Morphogenesis, growth, and differentiation. *Circulation* 123: 1125–1135.

Takasato, M. and M. H. Little. 2015. The origin of the mammalian kidney: Implications for recreating the kidney in vitro. *Development* 142: 1937–1947.

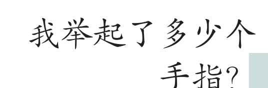
浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 19 章

四足动物肢的发育

考虑一下你的肢。它的一端有手指或足趾，肱骨或股骨在另一端。你不会找到任何人的手指位于臂中间。再考虑一下你的手和足之间细微但却明显的差异。如果你的手指被足趾替代，你一定会知道。尽管有这些差异，你足上的骨却类似于你手上的骨。很容易看出它们有一个共同的图式。最后，你双手的大小非常相似，你的双足也是如此。这些司空见惯的现象为发育生物学家提出了一些迷人的问题：脊椎动物如何只有 4 个肢，而不是 6 个或者 8 个？小指如何在肢的一侧发育而拇指在另一侧？前肢与后肢的生长如何不同？肢的大小是怎样被这样精确地调控的？是否有一套保守的发育机制能解释为什么我们的手有 5 个手指、鸡的翅上有 3 个指，而马的蹄只有 1 个？





19.1　肢的解剖结构

顾名思义，**四足动物**（**tetrapod**）是具有四肢的脊椎动物（两栖类、

要点

为在陆地上运动，四足动物的肢在骨和位于它们远端的一组指之间具有关节。当发育中的生肌节和侧板中胚层细胞迁移到预定肢场，也就是肢间充质，并在其中增殖时，肢就作为一个组织“芽”出现在胚胎的两侧。这个增殖性的“渐进带”被外胚层覆盖，远端顶端的增厚称为外胚层顶嵴。源于这个顶嵴的成纤维细胞生长因子 −8 信号拮抗侧翼来源的视黄酸，与间充质信号（成纤维细胞生长因子 −10 和 Wnt）启动一个正反馈环，促进肢芽的外向生长。成纤维细胞生长因子 −8 将后部间充质特化为“极性活性区”，这个区域分泌 Shh 以建立肢的前 − 后（拇指 − 小指）轴。Wnt 信号决定背 − 腹轴（指关节 − 掌）。骨骼发生受控于形态发生素相互作用而建立的自组织“图灵式”模型。在某些动物，指间的早期蹼组织仍然保留；在另一些动物，它通过骨形态发生蛋白介导的细胞凋亡而死亡。肢的每个信号系统都影响同源异形基因沿各个轴的差异性表达，这种表达的变异支持了鳍到指的进化。

爬行类、鸟类和哺乳类）。任何四足动物肢的骨，不论是臂还是腿、翼还是鳍肢，都是由一个邻近体壁的近端**肢柱**（**stylopod**）即肱骨/股骨、一个中部的**肢杆**（**zeugopod**）即桡骨-尺骨/胫骨-腓骨，以及一个远端的**肢梢**（**autopod**），即腕骨-手指/跗骨-足趾[1]所组成（图 19.1）。手指和足趾可被称为指骨/趾骨，或者更通俗地称为指/趾。构建一个肢所需要的位置信息必须在一个三维[2]坐标系统中发挥作用。

- 第一个维度是近-远轴（“由近到远”；也就是肩到手指或臀到足趾）。肢的骨由软骨内成骨形成。它们最初是软骨，但最终大部分软骨被骨取代。肢细胞在肢形态发生的早期（在它们形成肢柱时）和晚期（在它们形成肢梢时）以不同的方式发育。
- 第二个维度是前-后轴（拇指到小指）。我们的小指或小趾表示后端，而大拇指或大足趾位于前端。在人类，很显然，每只手都以另一只手为镜像进行发育。你可以想象其他排列，如拇指在双手的左侧发育，但这样的图式不会发生。
- 第三个维度是背-腹轴：我们的手掌（腹面）与指关节（背面）有明显的差别。

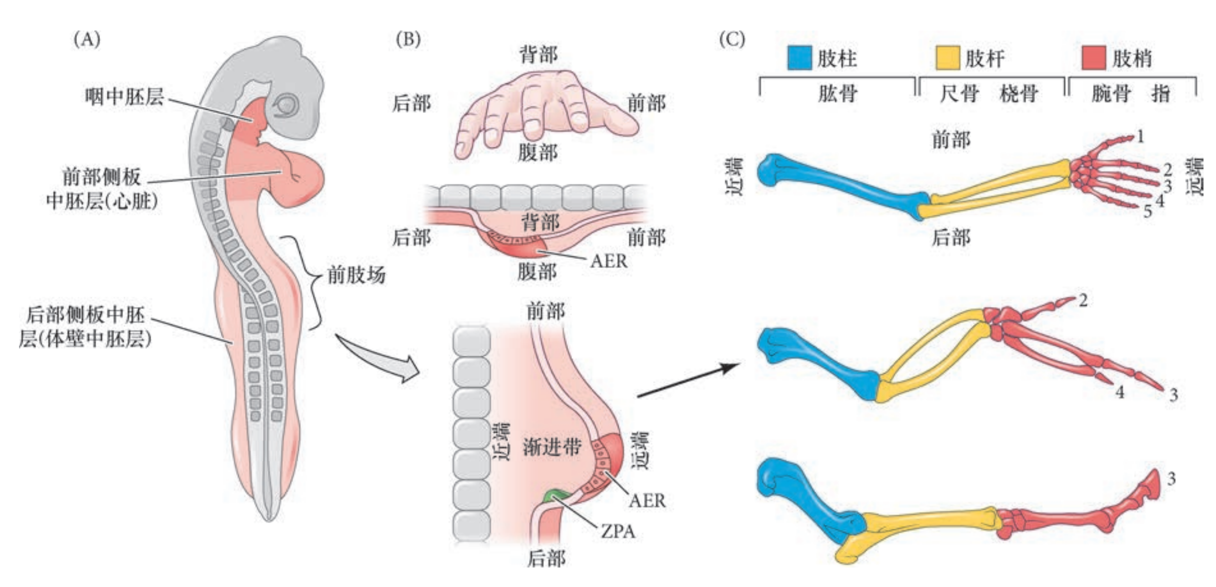


图 19.1　肢的解剖结构。(A) 肢生长前的鸡胚胎图示，显示三种重要的中胚层细胞类型及肢场的出现。(B) 肢芽的轴向和解剖结构。(C) 人的手臂、鸡的翅和马的前肢的骨骼图式。按照惯例，鸡翅上的指被编号为 2、3 和 4。形成指的软骨致密似乎与形成小鼠和人的第 2、3 和 4 指的软骨致密相类似。但有新的证据表明正确的编号可能是 1、2 和 3。AER：外胚层顶嵴；ZPA：极性活性区（A 图参考 Tanaka 2013；B 图参考 Logan 2003）。

19.2　肢芽

肢发育的首个可见迹象是在预定前肢和后肢的位置形成两侧隆起（图 19.2A），称为**肢芽**（**limb bud**）。Ross Granville Harrison 实验室对蝾螈命运图谱的先驱研究（见 Harrison 1918，1969）表明，侧板中胚层体壁区域的这一圆盘中央的细胞通常形成肢本体。相邻的细胞将形成围臂（肢周围）的侧翼组织和上肢带骨。但是，如果把所有这些细胞从胚胎中去除，肢仍然能从环围这个区域但在正常情况下不形成肢的另外一个细胞环中形成（虽然会晚一些）。如果将这个周围的细胞环一同去除，肢将不能发育。这个大的区域，代表这个区域内能够自身形成一个肢的所有细胞，称为**肢场**（**limb field**）。

组成肢芽的细胞来自后部侧板中胚层、邻近的体节及肢芽的上部外胚层。侧板中胚层的间充质细胞迁移进肢场，形成肢的骨骼前体细胞，而位于相同水平的体节间充质细胞迁移到肢场，形成肢的肌肉前

[1] 这些术语可能很难记，但知道它们的词源会有帮助。*Stylo*，像一个柱子；*zeugo*，连接；*auto*，自身；*pod*，足。

[2] 实际上，这是一个四维系统，其中时间是第四个轴。发育生物学家习惯在四维中洞察自然。

体细胞（图 19.2B，C）。这个逐渐积累的异质性间充质细胞群体在外胚层组织的下方增殖，建立肢芽。

即便是早期的肢芽也具有自身的组织化，使得生长的主要方向沿近 - 远轴（体节到外胚层）进行，而沿背 - 腹轴和前 - 后轴方向只有较少的生长（见图 19.1B）。肢芽被进一步区域化，形成三个不同功能的区域。

1. 促进肢芽生长的高度增殖性间充质被称为**渐进带**（**progress zone，PZ**）间充质（也被称为未分化区）。
2. 渐进带最后部区域的细胞组成**极性活性区**（**zone of polarizing activity，ZPA**），因它沿前 - 后轴方向图式化细胞命运。
3. **外胚层顶嵴**（**apical ectodermal ridge，AER**）是位于发育的肢芽顶端的外胚层增厚（图 19.2D）。

发育辅导课　四足动物肢的发育　**Michael J.F. Barresi** 博士描述构建一个肢的基本知识。

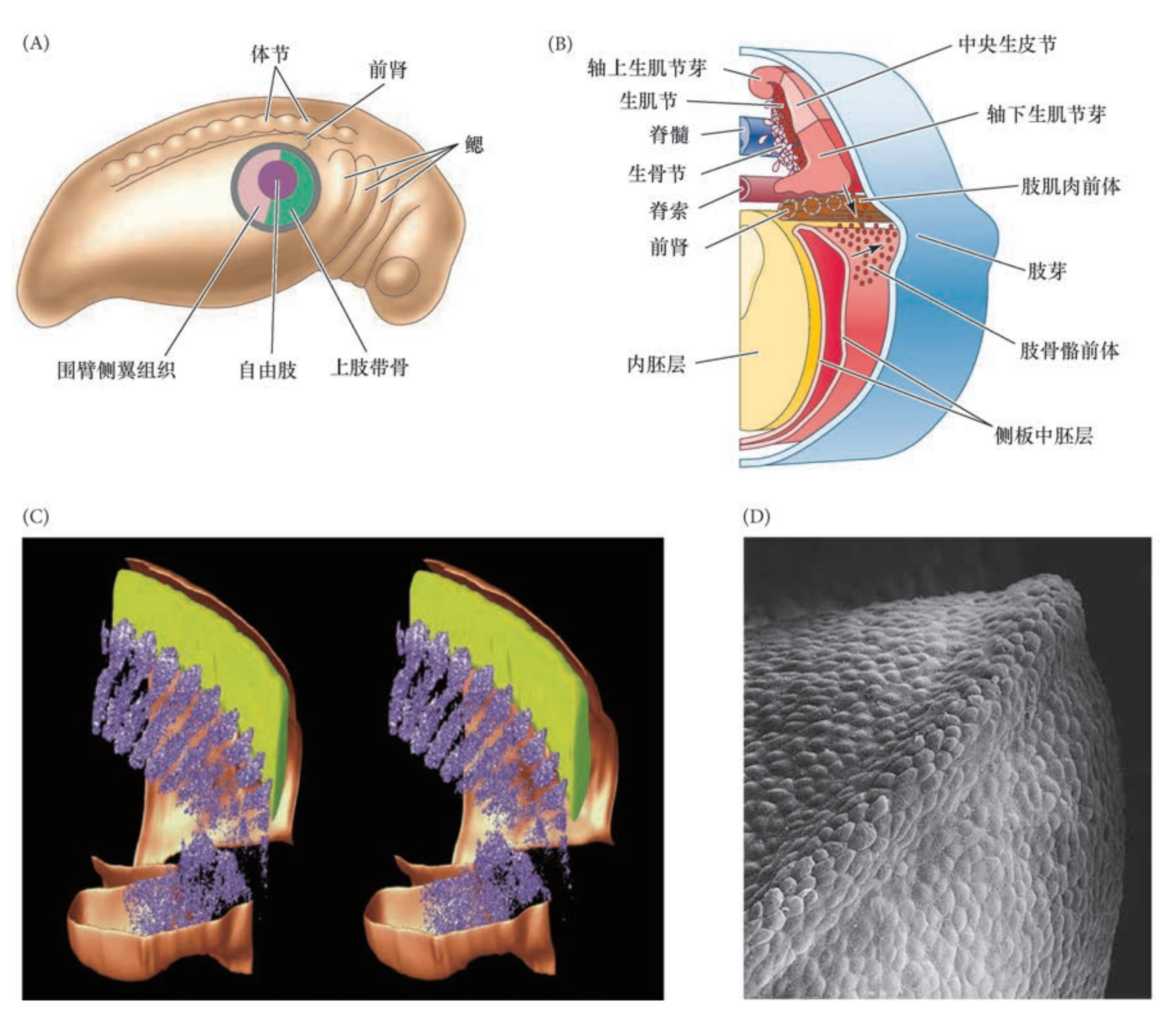


图 19.2　肢芽。(A) 黄斑点蝾螈（*Ambystoma maculatum*）的未来前肢场。中央区域含有将要发育成肢本体（自由肢）的细胞。自由肢周围的细胞形成围臂侧翼组织和上肢带骨。这些区域外部的细胞环通常不参与肢的形成，但是在更中央的组织被去除后它们也能形成肢。(B) 肢芽的出现。侧板中胚层体壁区域的间充质细胞（箭所示）的增殖使两栖类胚胎中的肢芽向外隆起。这些细胞产生肢的骨骼成分。外侧生肌节的成肌细胞参与形成肢的肌肉组织。(C) 成肌细胞（紫色）进入肢芽。这个计算机模拟的立体图是通过切片原位杂交技术检测成肌因子 -5 的 mRNA 在发育的肌细胞中的表达而制作的。如果你能眼神交叉（或试图聚焦“透过”这一页，穿过它看到你的足趾），立体图的三维效果就会变得很明显。(D) 早期鸡胚胎前肢芽的扫描电镜显微照片，显示位于前景的外胚层顶嵴（A 图参考 Stocum and Fallon 1982；C 图由 J. Streicher 和 G. Müller 提供；D 图由 K. W. Tosney 提供）。

19.3 同源异形基因对肢骨骼特征的特化

同源异形框转录因子，或同源异形基因，对特化一个特定的间充质细胞是否变成肢柱、肢杆或肢梢有关键作用。明确它们的功能使得研究人员对脊椎动物肢的发育和进化有了更深入的认知。

19.3.1 近端到远端：肢中的同源异形基因

Hoxa 和 *Hoxd* 基因复合体的 5′ 端（*AbdB* 样）部分（9 ～ 13 旁系同源基因）似乎在小鼠肢芽中有活性。基于这些基因的表达图式，以及自然发生和基因敲除的突变，Mario Capecchi 实验室（Davis et al. 1995）提出了一个模型，认为这些同源异形基因特化一个肢区域的特征（**图 19.3A，B**）。*Hox9* 和 *Hox10* 旁系同源基因特化肢柱、*Hox11* 旁系同源基因特化肢杆、*Hox12* 和 *Hox13* 旁系同源基因特化肢梢。这种情况已经被很多实验所证实。例如，Wellik 和 Capecchi（2003）在小鼠胚胎中敲除了三个 *Hox10* 旁系同源基因（*Hox10aaccdd*）的所有 6 个等位基因，这样得到的小鼠有严重的中轴骨骼缺陷，而且它们也没有股骨或髌骨（但它们的确有肱骨，这是因为 *Hox9* 旁系同源基因在前肢的肢柱表达，而在后肢的肢柱不表达）。如果三个 *Hox11* 旁系同源基因的所有 6 个等位基因全部被敲除，后肢仍有股骨但没有胫骨和腓骨（并且前肢缺失尺骨和桡骨）。因此，敲除 *Hox11* 会导致肢杆缺失（**图 19.3C**）。类似地，敲除 *Hoxa13* 和 *Hoxd13* 旁系同源基因的所有等位基因会造成肢梢的缺失（Fromental-Ramain et al. 1996）。具有 *HOXD13* 纯合突变的人呈现出手和足异常，其中手指合并（**图 19.3D**），而且，携带 *HOXA13* 纯合突变等位基因的人也具有

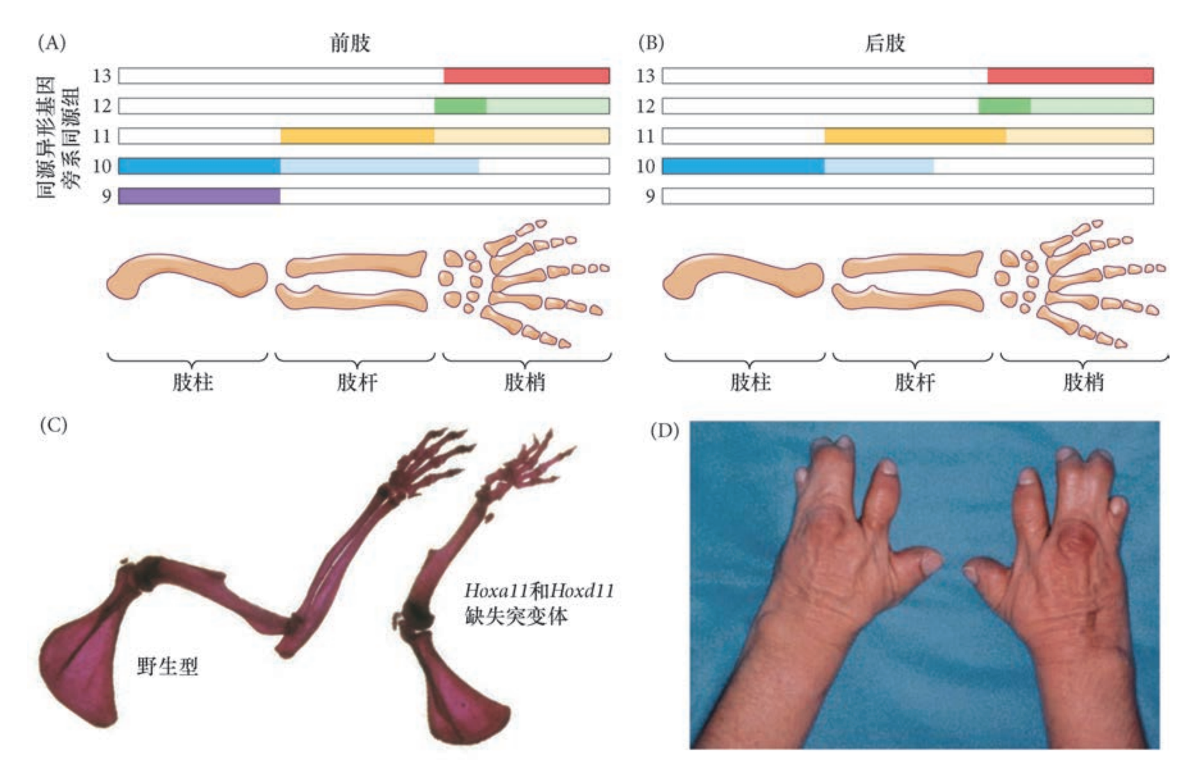


图 19.3 旁系同源异形基因的缺失导致肢骨骼成分的缺失。(A) 5′ 端同源异形基因对前肢的图式化。*Hox9* 和 *Hox10* 旁系同源基因特化肱骨（肢柱）。*Hox10* 旁系同源基因在桡骨和尺骨（肢杆）的表达水平较低。*Hox11* 旁系同源基因主要参与肢杆的图式化。*Hox12* 和 *Hox13* 旁系同源基因在肢梢中起作用，其中 *Hox12* 旁系同源基因主要在腕中发挥功能，在指中的作用较小。(B) 类似但略有不同的图式也见于后肢。(C) 野生型小鼠（左）和缺失 *Hoxa11* 及 *Hoxd11* 基因的双突变体小鼠（右）的前肢。突变体小鼠的尺骨和桡骨严重变小或者缺失。(D) 人的多指并指（很多指连在一起）综合征是 *HOXD13* 基因座的纯合突变所导致。这个综合征也包括表达 *HOXD13* 的泌尿生殖系统的畸形（A 图和 B 图参考 Wellik and Capecchi 2003；C 图来自 Davis et al. 1995，由 M. Capecchi 提供；D 图来自 Muragaki et al. 1996，由 B. Olsen 提供）。

肢梢畸形（Muragaki et al. 1996；Mortlock and Innis 1997）。在小鼠和人类，肢梢（肢最远端部分）受最 5′ 端同源异形基因功能缺失的影响。

科学家讲座 19.1 Denis Duboule 博士关于肢同源异形基因的网络会议。

19.3.2 从鳍到手指：同源异形基因与肢的进化

脊椎动物的附属肢体如何演变成现今我们发现如此有用的四肢？化石记录显示，前肢形态从条鳍鱼的胸鳍到四足动物具有指的肢发生了一个重要的转变，这种转变为水生生命探索陆地栖息地提供了机遇。明确四足动物肢的进化史能帮助我们分析对现今肢形态构建至关重要的发育机制。对泥盆纪化石提塔利克鱼 *Tiktaalik roseae*（一个“具有指的鱼”）的发现进一步突出了关节发育在肢进化中的重要性。鱼鳍，包括一些最原始物种的鱼鳍，与四足动物形成它们的肢时一样，使用相同的三个同源异形基因表达阶段来调控其发育（Davis et al. 2007；Ahn and Ho 2008）。关节有可能使得鳍骨独立演化成肢骨。提塔利克鱼胸鳍的关节与两栖类的关节十分相似，这表明提塔利克鱼具有可动的腕，以及一个使肘和肩能够弯曲的基质支撑姿势（**图 19.4A ～ C**；Shubin et al. 2006；Shubin 2008）。另外，腕样结构的存在和这些区域中真皮鳞的丢失说明这种泥盆纪的鱼能在潮湿的基质上自行驱动。所以，提塔利克鱼被认为是鱼类和两栖类之间的一个过渡，是一种“可以做俯卧撑”的“鱼足动物”（正如它的发现者之一 Neil Shubin 描述的那样）。

沿不同分支发生了什么类型的分子和形态学变化使得一方面产生了条鳍鱼，而另一方面产生了陆生四足动物？在那些最接近四足动物的鱼类（肉鳍鱼类，如腔棘鱼和肺鱼），胸鳍的更近端骨与四足动物前肢的肢柱段是同源的，同样用于肩带或肩的衔接。但是，条鳍鱼的鳍在形态上发生了偏离，这在更远端的元件中最为明显，特别是肢梢（指）。条鳍鱼没有与肢梢联结的内骨骼，而肉鳍进化枝（肉鳍鱼）的祖先鱼在它们的鳍中有扩张的软骨内骨骼（与提塔利克鱼一样）。因此，针对控制更远端肢骨骼的发育机制的适应是肢进化的主要基础。

科学家讲座 19.2 在这个网络会议中，Peter Currie 博士讨论鱼类肢肌肉的进化。

鱼的鳍芽与肢芽是同源的，同样具有渐进带间充质和上方的外胚层顶嵴。但是，在肢柱的近端图式化之后，鳍芽的外胚层顶嵴变成**外胚层顶褶**（**apical ectodermal fold，AEF**），促进鳍条的发育而不是指的发育（**图 19.4D**）。有一种假设认为，外胚层顶嵴到外胚层顶褶过渡的潜在发育延迟将会使组织更长时间地接触外胚层顶嵴的远端信号，使得渐进带间充质更容易变成肢梢的命运（指）。此外，远端同源异形基因时空图式的变化可能参与四足动物的手从古老肉鳍鱼的远端鳍区域的进化（Schneider and Shubin 2013；Freitas and Gómez-Skarmeta 2014；Zuniga 2015）。与 *Hoxa/d* 基因簇相关的顺式调控增强子数量的增加可能为肢梢的遗传适应提供了一种机制（见图 19.4D）。这个模型有进一步的支持证据，研究人员已经鉴定出保守的增强子（“整体控制区域 GCR”和 CsB），以及与早期（近端）和晚期（远端）同源异形基因表达相关的四足动物特异增强子（CsS）。事实上，小鼠的四足动物特异增强子能在转基因斑马鱼胚胎中功能性地驱动报道基因表达在最远端的间充质（**图 19.5**；Freitas et al. 2012）。

总之，从鱼的鳍到人的手，对四足动物肢进化的简要考证已经明确地显示了肢发育过程中同源异形基因调控的重要性。同源异形基因沿着肢的每个轴对细胞命运的特化至关重要，并且它们的表达受到来自侧翼（近端）和外胚层顶嵴（远端）及其他区域的信号的影响。这些信号是什么，它们怎样起作用：①决定肢形成的位置；②促进肢芽的外向生长和图式化；③沿前后 - 轴和背 - 腹轴特化细胞命运。

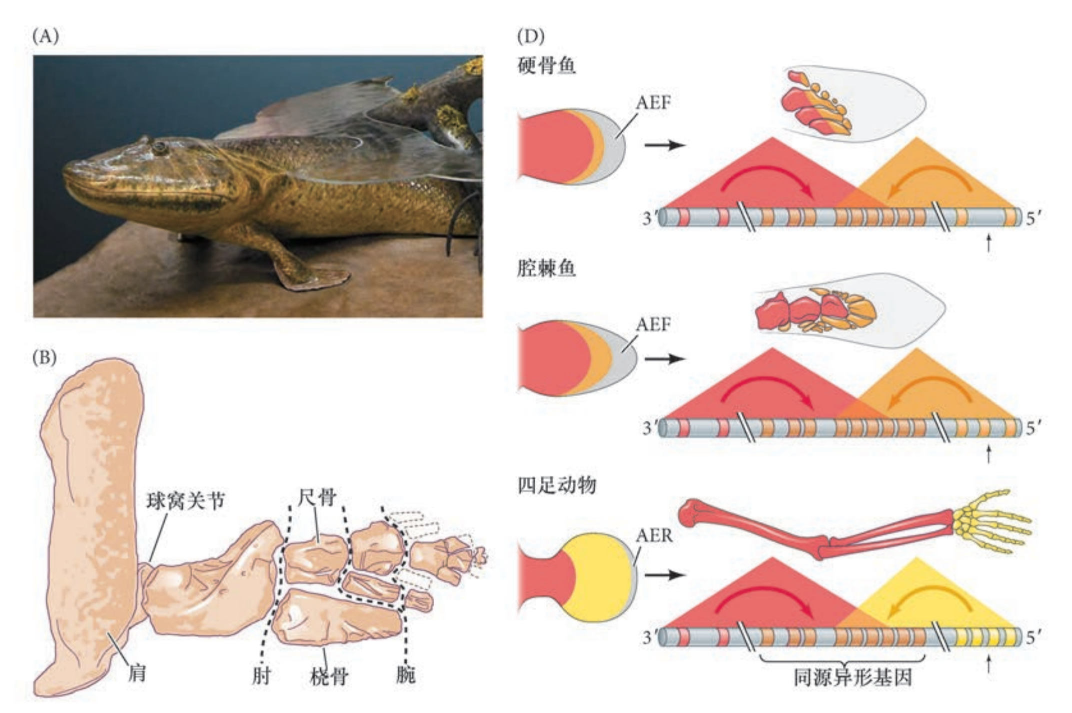




图 19.4 肢的进化。(A) 提塔利克鱼 (*Tiktaalik roseae*)，一种具有腕和指的鱼，大约 3 亿 7500 万年前生活在浅水区。这个重建显示提塔利克鱼的鱼样鳃、鳍、鳞和（缺失的）颈部。但是，其吻部上的外鼻孔显示它能够呼吸空气。(B) 化石化的提塔利克鱼骨显示指、腕、肘和肩的前兆，并且表明这种类似两栖类的鱼能在河床上自我驱动，也许还能在陆地上短时间栖息。鳍的关节包括一个肩部的球窝关节和一个能使腕弯曲的平面关节。其他关节使得这种动物可以栖息在它的基质上。(C) 与基质的抗性接触可能会使近端关节（肩和肘）屈曲、远端关节（腕和指）延伸。(D) 示意图显示硬骨鱼（斑马鱼）、假设的腔棘鱼和人类中，肢芽、成体肢结构和 *Hoxd* 基因簇及其相关联的 5′ 端、3′ 端顺式调控增强子。在肢芽示意图中，近端和远端的间充质组织分别以红色和橙色 / 黄色表示，外胚层顶褶 (AEF) 和外胚层顶嵴 (AER) 为灰色。在成体肢中，鳍辐板的形成见于硬骨鱼和腔棘鱼（近端为红色、远端为橙色、真皮骨骼为灰色），而肢梢的指存在于人类（黄色）。同源异形基因 5′ 端顺式调节区的适应可能是肢梢进化的基础 (A 图为 John Weinstein/Field Museum Library/ Getty Images 版权所有；B 图和 C 图参考 Shubin et al. 2006；D 图参考 Schneider and Shubin 2013；Woltering et al. 2014；Zuniga 2015)。

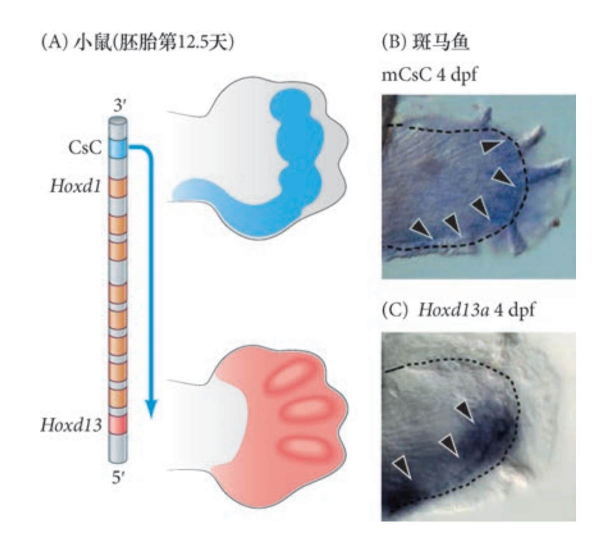


图 19.5 小鼠 *Hoxd13* 的四足动物特异增强子 (CsC) 在斑马鱼鳍芽远端驱动类似的基因表达。(A) *Hoxd13* 基因位于 CsC 增强子的下游，并在小鼠肢的远端应答 CsC 增强子的作用。(B) 在斑马鱼的鳍中，同样的小鼠 CsC 增强子 (mCsC) 能在内骨骼区域的远端边界（虚线）驱动报道基因的表达 (mCsC：GFP；蓝色，箭头所示)。(C) 在斑马鱼鳍中 mCsC：GFP 的表达图式在空间上类似于 *Hoxd13a* 的内源表达图式（蓝色，箭头所示），说明 CsC 可能是同源异形基因调控的保守增强子。4 dpf：受精后第 4 天（参考 Freitas et al. 2012）。

 **科学家讲座 19.3**　Sean Carroll 博士的网络会议讨论顺式调控元件在进化中的作用。

19.4　决定肢形成的类型和位置

与心脏和脑不同，因为肢对胚胎和胎儿的生命并不是必需的，所以人们可以通过实验的方法去除或移植发育过程中肢的一些部分或者建立肢特异突变体，而不干扰生物体的重要发育过程。这些实验表明，形成肢的某些基本“形态发生规则”似乎在所有四足动物中都相同。爬行动物或哺乳动物的移植块能引导鸡的肢形成，从蛙的肢芽中取出的区域能引导蝾螈肢的图式形成（Fallon and Crosby 1977；Sessions et al. 1989；Hinchliffe 1991）。此外，再生中的蝾螈肢似乎遵循许多与发育的肢中所使用的相同规则（见第 22 章；Muneoka and Bryant 1982）。这些形态发生规则是什么？

19.4.1　特化肢场

肢不会沿体轴的任意位置形成；相反，它们在一些离散的位置形成。鸡的早期命运图谱和移植研究证明，体节和侧板中胚层的两个特定区域（或场），在翅或腿出现任何可见的迹象之前就被决定将要形成肢。形成脊椎动物肢的中胚层细胞被以下实验手段鉴定出来：①移除某些细胞，这些细胞的缺失使肢无法形成（“失去它”，见 Detwiler 1918；Harrison 1918），②将一些细胞移植到一个新的位置，它们能在新的位置形成肢（“移动它”，见 Hertwig 1925）；③用染料或放射性前体标记细胞，这些细胞的后代参与肢的形成（“发现它”；Rosenquist 1971）。

脊椎动物的每个胚胎最多只有四个肢芽，并且这些肢芽总是成对地处在中线的两侧。尽管不同脊椎动物的肢相对于体节水平出现在不同的位置，但相对于前 - 后体轴方向上同源异形基因的表达层次，它们的位置却是恒定的（见第 9 章）。例如，在鱼类（其中胸鳍和腹鳍分别对应于前肢和后肢）、两栖类、鸟类和哺乳类，前肢芽位于 *Hoxc6* 表达区域的最前端，即第一胸椎的位置[3]（Oliver et al. 1988；Molven et al. 1990；Burke et al. 1995）。这有可能是同源异形基因表达区域的位置信息使肢形成区域的轴旁中胚层不同于所有其他轴旁中胚层。一些将不同位置的轴旁中胚层（体节）置入侧翼侧板邻近位置的移植实验显示，肢形成区域的轴旁中胚层能促进肢芽形成，而无肢侧翼的轴旁中胚层活跃抑制肢的形成（**图 19.6**；Noro et al. 2011）。

在刚形成时，肢场就具有对丢失或添加部分的调节能力。在黄斑点蝾螈（*Ambystoma maculatum*）的尾芽期，肢盘的任何一半被移植到新的位置时都能产生一个完整的肢（Harrison 1918）。这种潜能也可以通过将肢盘垂直分割成两个或更多的片段，并在不同片段之间放置薄的障碍物以阻止它们重新合并而予以证明。这样，每一段都能发育成一个完整的肢。因此，就像早期的海胆胚胎一样，肢场代表一种“协调的均等体系”，在这个体系中，一个细胞能被指令形成肢的任何部分。肢芽的调节能力最近被自然界中一个非凡的实验进一步显现出来。在美国的很多池塘中发现了一些多腿的蛙和蝾螈（**图 19.7**）。这些额外附属肢体的出现与幼体腹部的寄生性吸虫包侵染有关。这些吸虫的卵在多个位置明显地分割了发育的蝌蚪肢芽，这些肢芽片段发育成多个肢（Sessions and Ruth 1990；Sessions et al.1999）。

19.4.2　早期肢芽的诱导

在躯干部沿前 - 后轴方向的差异性同源异形基因表达建立了一个组织特征的预图式，其中包括肢场位置，但什么机制被随后激活以起始形成肢芽？这个过程可以分为四个阶段：①使中胚层具有形成肢的容许性；②特化前肢和后肢；③诱导上皮到间充质转换；④为肢芽的形成建立两个正反馈环。

---

[3] 有趣的是，至少在一些蛇中（如巨蟒），同源异形基因的表达建立了一种图式，其中每个体节被特化变成一个胸（带肋骨的）椎。目前还没有发现与肢形成区域相关的同源异形基因表达图式（见第 13 章；Cohn and Tickle 1999）。

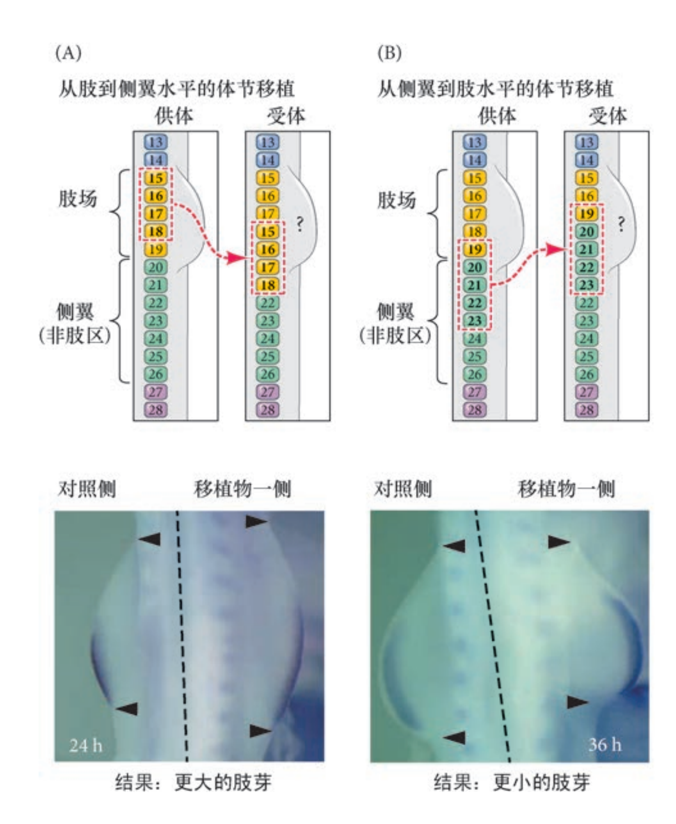


图 19.6 将前体节中胚层的不同区域移植到肢场后改变肢的大小。(A) 将预定前肢水平的前体节中胚层移植到侧翼（前肢和后肢之间的区域）产生一个更大的前肢芽（箭头之间的区域）。(B) 将侧翼区域的前体节中胚层移植到预定前肢的位置产生一个更小的前肢芽（参考 Noro et al. 2011）。

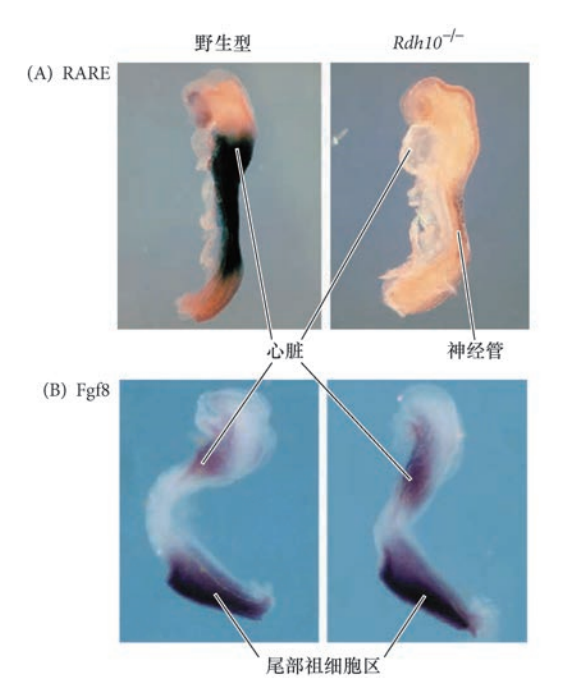


图 19.7 多肢的太平洋树蛙 (*Hyla regilla*)，这是在蝌蚪期发育的肢芽被寄生性吸虫的包囊侵染而造成的结果。这种寄生性包囊明显地将发育的肢芽在多处进行了分割，产生了额外的肢。在这个成体蛙的骨骼中，软骨被染成蓝色，骨被染成红色（由 S. Sessions 提供）。

1. 视黄酸赋予中胚层形成前肢的容许性 在第 17 章，我们描述了体节发生过程中视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8 之间的拮抗关系。回想一下，成纤维细胞生长因子 -8 表达在紧靠前肢场后端的尾部祖细胞区（并且沿前体节中胚层呈现出一个后部浓度高的梯度），而视黄酸在体节和前端前体节中胚层的更前端产生；但是，与前肢的发育相关，成纤维细胞生长因子 -8 也表达在紧位于前肢场前部的心脏侧板中胚层（**图 19.8**）。对鸡和小鼠前肢及斑马鱼胸鳍发育的研究显示，成纤维细胞生长因子 -8 的前部和后部表达抑制前肢芽的起始（Tanaka 2013；Cunningham and Duester 2015）。例如，直接表达成纤维细胞生长因子 -8 或通过表达组成型活化的成纤维细胞生长因子受体时，成纤维细胞生长因子 -8 的功能获得导致前肢场缺失（表现为 *Tbx5* 表达的缺失；见图 19.8C）和肢的截短（Marques et al. 2008；Cunningham et al. 2013）。

相反，视黄酸表达在邻近前肢场的整个躯干部体节区域，在这个区域它对抑制躯干部成纤维细胞生长因子 -8 的表达是必需的，从而促进前肢芽的起始。在脊椎动物的前肢中靶向视黄酸合成的缺失（通过突变或药物抑制）导致成纤维细胞生长因子 -8 的表达向预定前肢场扩张、*Tbx5* 表达的降低及前肢芽无法形成，所有这些结果都与成纤维细胞生长因子 -8 信号的功能获得相一致。因为视黄酸作为一个转录因子的配体发挥功能，并被证明能直接抑制成纤维细胞生长因子 -8 基因的转录 (Kumar and Duester 2014)，目前关于前肢芽形成的模型是视黄酸首先限制成纤维细胞生长因子 -8 在预定肢场的表达。在没有成纤维细胞生长因子 -8 的状态下，侧板中胚层具有前肢芽形成和发育的容许性（**图 19.9A**；Tanaka 2013；Cunningham and Duester 2015）。

尽管视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8 之间的拮抗作用在前肢起始和早期体节发生中起作用，但视黄酸对于后肢的发育在很大程度上却不是必需的。在小鼠中视黄酸合成的缺失不影响后肢芽的形成，而且后肢的整体大小和发育图式也保持正常 (Cunningham et al. 2013)。因此，目前还不清楚是什么信号机制调节后肢芽的起始。



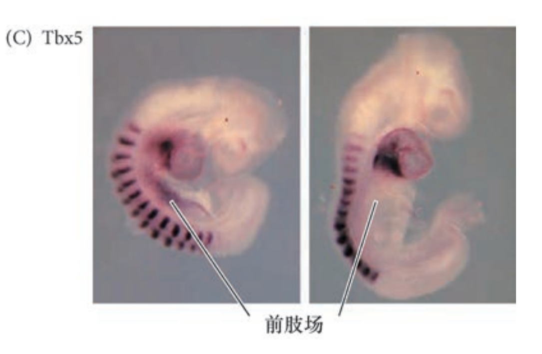


图 19.8　视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）的拮抗作用决定 Tbx5 在小鼠前肢场的表达图式。如左侧对照组所示，视黄酸调控元件（RARE）驱动的报道基因表达正好位于心脏（前端）和整个尾部祖细胞区的成纤维细胞生长因子 -8 表达区域之间。（A）视黄酸调控元件驱动的报道基因表达几乎完全被视黄酸脱氢酶 -10 的功能缺失（*Rdh10*$^{-/-}$，右侧）所抑制，仅有的例外是神经管的微弱表达。（B）相反，视黄酸脱氢酶 -10 的缺失使成纤维细胞生长因子 -8 的表达扩张到视黄酸通常表达的中轴区域。（C）视黄酸脱氢酶 -10 的缺失所引起的视黄酸信号缺乏也导致 Tbx5 在前肢场表达的降低（来自 Cunningham et al. 2013）。

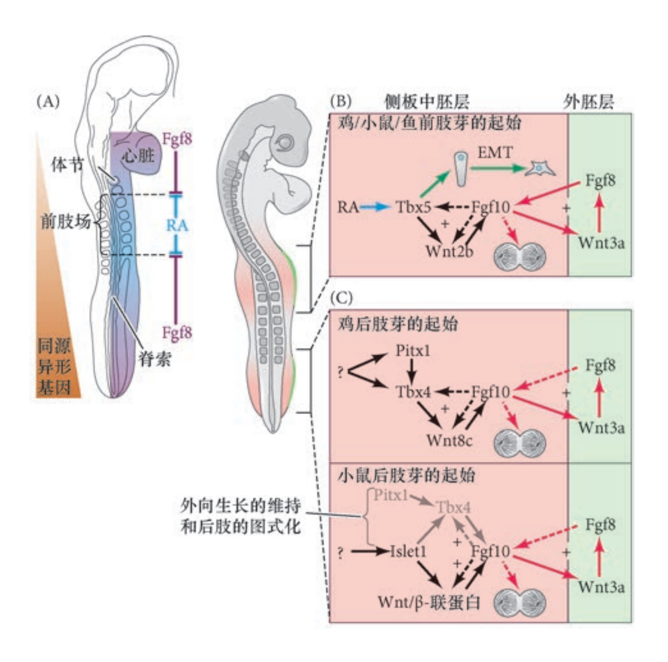


图 19.9　前肢场形成的模型。（A）最初，中轴水平的同源异形基因调控成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）和视黄酸（RA）的表达，这两个相互拮抗的信号诱导 Tbx5 的表达以起始形成前肢场。（B）在不同物种中促进前肢发育的信号因子之间的正反馈环模型。（C）在小鼠和鸡之间很多图式化后肢发育的重要因子都相同，并且都产生正反馈的信号环路。但是，一些参与后肢诱导的起始因子的确存在差异；例如，Islet1 对小鼠的后肢是必需的，但对鸡的后肢不重要。EMT：上皮到间充质转换（A 图参考 Cunningham and Duester 2015）。

2. Tbx5 和 Islet1 分别特化前肢和后肢　前肢和后肢特征的早期特化在肢芽形成之前起始于肢场，受特定转录因子表达的调节（Agarwal et al. 2003；Grandel and Brand 2011）。在小鼠中，编码 Tbx5 的基因在前肢场转录，而编码 Islet1、Tbx4 和 Pitx1 的基因在预定后肢表达[4]（Chapman et al. 1996；Gibson-Brown et al. 1996；Takeuchi et al. 1999；Kawakami et al. 2011）。这些转录因子的下游是成纤维细胞生长因子 -10，它为肢芽的外向生长起始细胞的形态变化和增殖，是肢芽形成的主要诱导物，我们将在下面予以论述（**图 19.9B，C**）。

多个实验室（例如，Logan et al. 1998；Ohuchi et al. 1998；Rodriguez-Esteban et al. 1999；Takeuchi et al. 1999）提供了功能获得证据，显示 Tbx4 和 Tbx5 分别在前肢和后肢的特化中起关键作用。在肢形成前，

[4]*Tbx* 代表“T 框”，是一个特异的 DNA 结合域。*T*（*Brachyury*）基因及其相关基因具有编码这个结构域的序列。我们在第 18 章讨论了 *Tbx5* 在心室发育中的作用。

侧板中胚层的后部（包括将要形成后肢的区域）通常具有 Tbx4 的表达区域，而前部（包括将要形成前肢的区域）具有 Tbx5 的表达区域。如果利用分泌成纤维细胞生长因子 -10 的珠子在鸡的前肢芽和后肢芽之间诱导一个异位的肢（图 19.10A，B），这样产生的肢类型取决于哪种 Tbx 蛋白表达。将成纤维细胞生长因子的珠子置于靠近后肢（第 25 体节的对侧）的位置所诱导的肢芽表达 *Tbx4* 并变成后肢；在靠近前肢（第 17 体节的对侧）的位置所诱导的肢芽表达 *Tbx5* 并发育成前肢（翅）。在侧翼组织的中央所诱导产生的肢芽中，前部表达 *Tbx5* 而后部表达 *Tbx4*；这些肢发育成嵌合结构，前部像前肢，后部像后肢（图 19.10C ～ E）。此外，如果在鸡胚胎的整个侧翼组织中过表达 *Tbx4*（利用表达 *Tbx4* 的病毒侵染组织），在侧翼前部区域诱导产生的肢通常变成腿而不是翅（图 19.10F，G）。

在鸡、小鼠和鱼中，*Tbx5* 基因的功能缺失导致前肢形成的完全缺失，这甚至包括最近端的肩 / 肩带结构，进一步证明了 Tbx5 是一个起始前肢芽发生和特化的关键因子（Garrity et al. 2002；Agarwal et al. 2003；Rallis et al. 2003）。但是，Tbx4 对后肢的特化在鸡和小鼠之间存在差异。在鸡中，Tbx4 在后肢场的功能缺失完全抑制腿的起始形成和生长（Takeuchi et al. 2003）；在小鼠中，敲除 *Tbx4* 不影响后肢芽的生长和最初的图式化（Naiche and Papaioannou 2003），虽然腿的发育提前终止。这个发现说明，Tbx4 在小鼠中的作用是维持后肢外向生长而非初始形成。

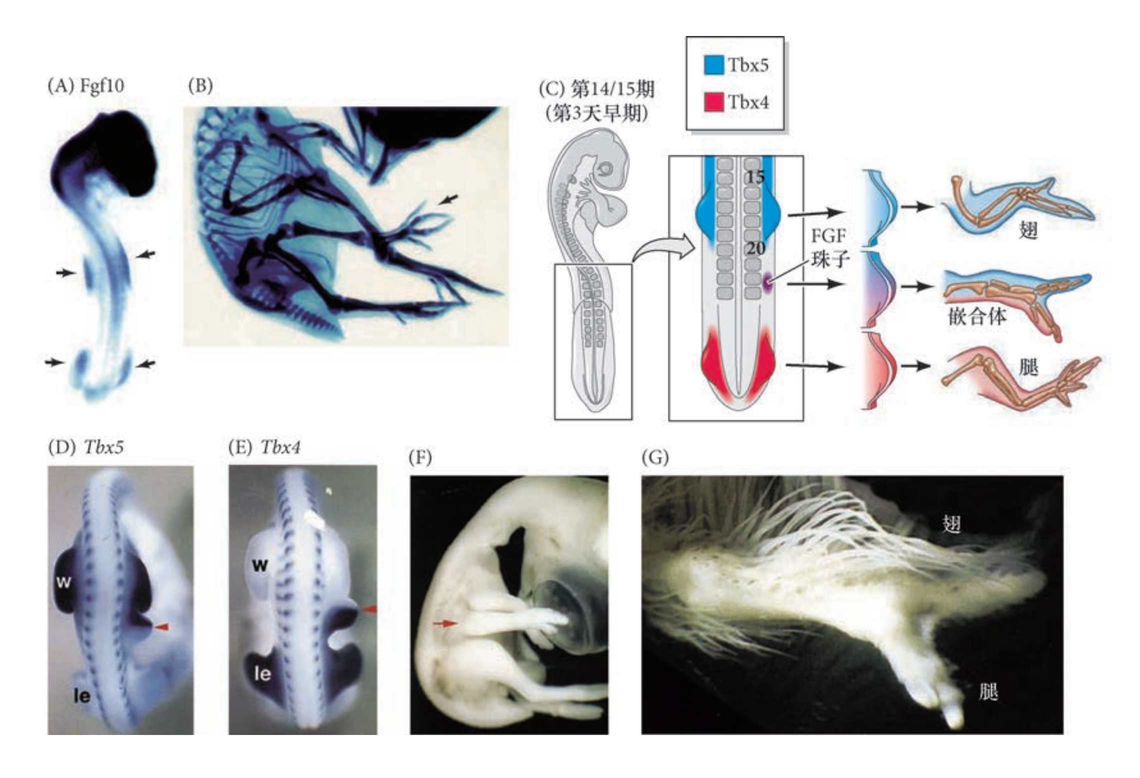


图 19.10 在发育的鸡胚胎肢中成纤维细胞生长因子 -10（Fgf10）的表达和作用。（A）成纤维细胞生长因子 -10 在侧板中胚层中精确地表达在正常形成肢的位置（箭所示）。（B）将分泌成纤维细胞生长因子 -10 的转基因细胞置于鸡胚胎的侧翼，这个因子能引起一个异位肢的形成（箭所示）。（C）在鸡中，肢的类型受 Tbx4 和 Tbx5 特化。原位杂交显示，在鸡的正常发育过程中，Tbx5（蓝色）表达在侧板中胚层的前部，而 Tbx4（红色）表达在侧板中胚层的后部。表达 Tbx5 的肢芽形成翅，而表达 Tbx4 的肢芽产生腿。如果一个新的肢芽被分泌成纤维细胞生长因子（FGF）的珠子诱导出来，这样形成的肢类型取决于肢芽中表达哪种 *Tbx* 基因。如果将珠子置于 *Tbx4* 和 *Tbx5* 的表达区域之间，它将诱导 *Tbx4* 在后部表达、*Tbx5* 在前部表达。由此产生的肢芽也将在前部表达 *Tbx5*，在后部表达 *Tbx4*，并将形成一个嵌合肢。（D）*Tbx5* 在前肢（w，翅）芽的表达，以及在分泌成纤维细胞生长因子的珠子所诱导的肢芽（红色箭头）前部的表达。成肌调节因子 -4 的 mRNA 的原位杂交染色显示体节的位置。（E）*Tbx4* 在后肢（le，腿）芽的表达，以及在成纤维细胞生长因子所诱导的肢芽（红色箭头）后部的表达。（F）成纤维细胞生长因子的珠子所诱导的嵌合肢（红色箭所示）。（G）在发育的后期，嵌合肢具有前部的翅结构（羽毛）和后面的腿结构（鳞片）（参考 Ohuchi et al. 1998；Ohuchi and Noji 1999；照片由 S. Noji 提供）。

更多新的研究结果显示，有另外两个参与后肢起始形成的转录因子：Pitx1 和 Islet1。的确，*Pitx1* 在小鼠前肢的错误表达导致其中的肌肉、骨和腱发育成类似于后肢中的相应组织（Minguillon et al. 2005；DeLaurier et al. 2006；Ouimette et al. 2009）；*Tbx4* 在小鼠前肢中的表达则不会产生这种效果。另外，Pitx1 蛋白在前肢中激活后肢特异基因，包括 *Hoxc10* 和 *Tbx4*。有趣的是，人的 *PITX1* 基因中一个引起 Pitx1 蛋白单倍剂量不足的突变导致双侧“马蹄内翻足”的表型（Alvarado et al. 2011）。这些结果表明 Pitx1 足以特化后肢；然而在 *Pitx1* 被完全敲除的小鼠中，虽然部分后肢结构出现畸形，但后肢既没有完全缺失，也没有严重的图式化异常（Duboc and Logan 2011）。这个结果提示，可能还有另一个因子在发挥作用。*Islet1* 是一个同源异形域转录因子，在成纤维细胞生长因子 -10 的表达和后肢芽形成之前过渡性地表达在小鼠的后肢场（Yang et al. 2006）。如果在侧板中胚层中特异性地失活 *Islet1*，后肢便不会形成，这与它对起始后肢形成的作用相一致（Itou et al. 2012）。与它们在后肢发育中的作用一样，*Islet1* 和 *Pitx1* 的转录调控也独立于各自的功能。尽管有报道显示这两个基因都能上调成纤维细胞生长因子 -10 和 *Tbx4* 的表达，但 Islet1 的功能是诱导后肢芽的起始形成（见图 19.9C，黑色箭所示），而 Pitx1 则在后肢的图式化中起作用（见图 19.9C，灰色箭所示）。

3. TBX5 对上皮到间充质转换的诱导　在肢芽形成之前，胚体壁的侧板中胚层呈现出假复层上皮的特征，具有顶部到基部的极性（**图 19.11**）。这种组织结构令人费解，因为这些细胞参与形成间充质细胞构成的肢芽渐进带。Clifford Tabin 实验室的研究结果证明，组成早期胚体壁中胚层的上皮细胞特异性地在肢场中经历上皮到间充质转换，并且是在侧翼区域中胚层出现这种细胞行为的任何迹象之前（Gros and Tabin 2014）。对胚体壁中胚层的谱系追踪显示，在 24 h 内有一个可见的上皮到间充质形态变化。至少在前肢，敲除 *Tbx5* 的小鼠表现出肢芽间充质的显著缺失，说明 Tbx5 是前肢场中上皮到间质转换的主要调节物（见图 19.9B，绿色箭所示）。目前还不清楚后肢的上皮到间充质转换是否也同样需要 Islet1、成纤维细胞生长因子 -10 或者其他因子（Tbx4、Pitx1）。

4. 成纤维细胞生长因子 -Wnt 为肢芽形成建立两个正反馈环　通过在前肢上调 *Tbx5* 和在后肢上调 *Islet1*，间充质细胞向肢芽的发育定型并分泌旁分泌因子成纤维细胞生长因子 -10。这个因子提供一个信号，起始和传播外胚层与中胚层之间形成肢的相互作用，这些信号的相互作用直接促使肢芽的形成和生长。

肢的形成无疑是胚胎发育中最显著的形态事件之一。肢的发育是一个持久的外向生长过程，成纤维细胞生长因子 -10 具有诱导肢形成的形态发生能力。不要忘记，含有成纤维细胞生长因子的珠子被异位地置入侧翼外胚层之下能诱导额外肢的形成（见图 19.10B，C；Ohuchi et al. 1997；Sekine et al. 1999）。如果成纤维细胞生长因子 -10 是诱导肢芽生长的信号因子，那么这种生长是如何维持的？

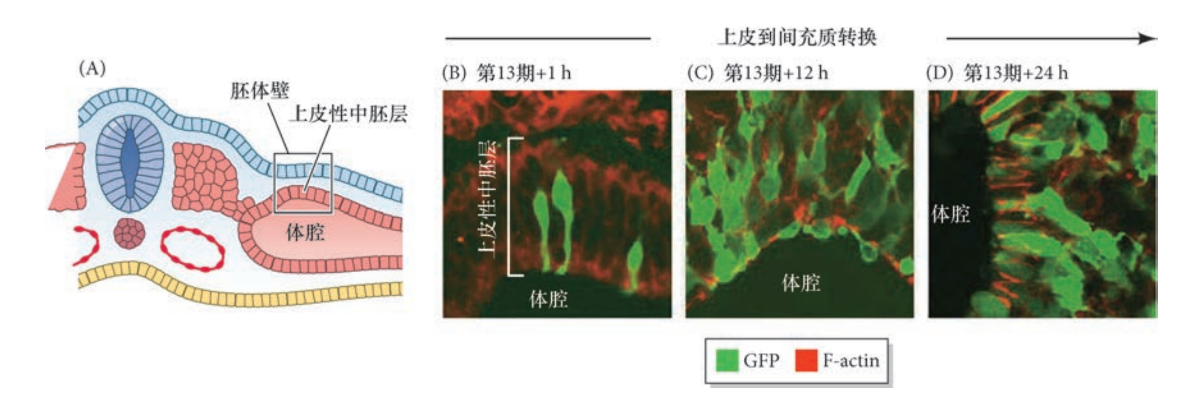


图 19.11　肢芽形成过程中胚体壁的上皮性中胚层的上皮到间充质转换。(A) 上皮性的早期胚体壁中胚层（侧板中胚层）。(B ～ D) 24 h 后，这个中胚层（被绿色荧光蛋白标记）在肢场区域经历上皮到间充质转换。GFP：绿色荧光蛋白；F-actin：丝状肌动蛋白（参考 Gros and Tabin 2014）。

这个问题的答案是正反馈环。成纤维细胞生长因子 -10 信号的下游靶点之一是 Wnt/β- 联蛋白，以及它所起始的转录因子，这些转录因子能延续成纤维细胞生长因子 -10 信号（见图 19.9B，C；黑色虚线箭所示）。这个反馈环可被认为是肢诱导的限速步骤：成纤维细胞生长因子 -10 一旦表达，肢芽的形成和生长将会开始。例如，在预定前肢场，Tbx5 诱导 Wnt2b，然后 Wnt2b 上调成纤维细胞生长因子 -10，而成纤维细胞生长因子 -10 反过来以正向反馈的方式维持 Wnt2b 和 Tbx5 的激活。由于成纤维细胞生长因子 -10 信号受到维持，肢芽将会形成，肢也将开始生长，但这是为什么？成纤维细胞生长因子 -10 还做了什么，从而更直接地引导肢芽的外向生长？

肢场间充质分泌的成纤维细胞生长因子 -10 诱导上部的外胚层形成外胚层顶嵴（见图 19.20；Xu et al. 1998；Yonei-Tamura et al. 1999）。外胚层顶嵴沿肢芽的远端边缘延伸，并将成为肢发育过程中的一个主要信号中心（Saunders 1948；Kieny 1960；Saunders and Reuss 1974；Fernandez-Teran and Ros 2008）。成纤维细胞生长因子 -10 能在位于胚胎背侧和腹侧之间的具有应答能力的外胚层中诱导外胚层顶嵴。背侧和腹侧外胚层相接触的边界对外胚层顶嵴的定位具有关键作用。

在肢芽出现背部化和没有背腹边界的突变体中（如鸡的 *limbless* 突变体），外胚层顶嵴不能形成，肢的发育停止（Carrington and Fallon 1988；Laufer et al. 1997a；Rodriguez-Esteban et al. 1997；Tanaka et al. 1997）。成纤维细胞生长因子 -10 在未来肢芽表面外胚层中激活 Wnt3a（在鸡中是 Wnt3a；在人和小鼠中是 Wnt3），Wnt 蛋白通过经典 β- 联蛋白途径诱导成纤维细胞生长因子 -8 在外胚层的表达（Fernandez-Teran and Ros 2008）。这种信号接力代表肢形成的奠基阶段，因为一旦表面外胚层表达成纤维细胞生长因子 -8，它就会进行延伸而物理性地变成外胚层顶嵴。外胚层顶嵴的主要功能之一就是指令其下方的间充质细胞继续产生成纤维细胞生长因子 -10。以这种方式，第二个正反馈环便建立起来，来自中胚层的成纤维细胞生长因子 -10 指令表面外胚层继续产生成纤维细胞生长因子 -8，而表面外胚层继续指令其下方的中胚层表达成纤维细胞生长因子 -10（见图 19.9B，C；红色箭所示），每种成纤维细胞生长因子激活另一种的合成（Mahmood et al. 1995；Crossley et al. 1996；Vogel et al. 1996；Ohuchi et al. 1997；Kawakami et al. 2001）。成纤维细胞生长因子的持续表达在外胚层顶嵴下方的间充质中维持有丝分裂，这样就促进了肢的外向生长。

拓展性问题

自主还是非自主？也许这应该是关于后肢芽形成的问题。视黄酸对成纤维细胞生长因子 -8 的拮抗是一个重要的非自主性机制，对诱导前肢发育是必需的，但是这种"旁分泌因子的战争"在后肢场的诱导中不起作用。同源异形基因和 Islet1 基因的表达是否能产生一个充分的预图式化，以支持后肢芽诱导的自主性机制？而且，第四维度，即时间，对后肢发育的影响有多重要？你将如何通过实验来探索这些问题？

19.5 外向生长：产生肢的近－远轴

19.5.1 外胚层顶嵴

成纤维细胞生长因子 -10 诱导的外胚层顶嵴是一个多功能信号中心，将在肢发育的所有轴向上影响图式化（**图 19.12A，B**）。外胚层顶嵴的各种作用包括：①将其下部的间充质维持在一个可塑和增殖的状态，使肢能够线性（近 - 远方向，或肩 - 指方向）生长；②维持那些产生前 - 后（拇指 - 小指）轴的分子的表达；③与特化前 - 后轴和背 - 腹（指关节 - 手掌）轴的蛋白质作用，使每个细胞都获得如何分化的指令（见图 19.1）。

外胚层顶嵴与其下部（200 μm）肢芽间充质之间的一系列相互作用使得肢芽在近 - 远端方向生长和分化。如上所述，远端间充质被称为渐进带间充质，因为它的增殖性活动使肢芽延伸（Harrison 1918；Saunders 1948；Tabin and Wolpert 2007）。这些相互作用被鸡胚胎中的很多实验结果所证明（**图 19.12C**）。

1. 如果在肢发育的任何时间移除外胚层顶嵴，远端肢骨骼成分的进一步发育就会终止。

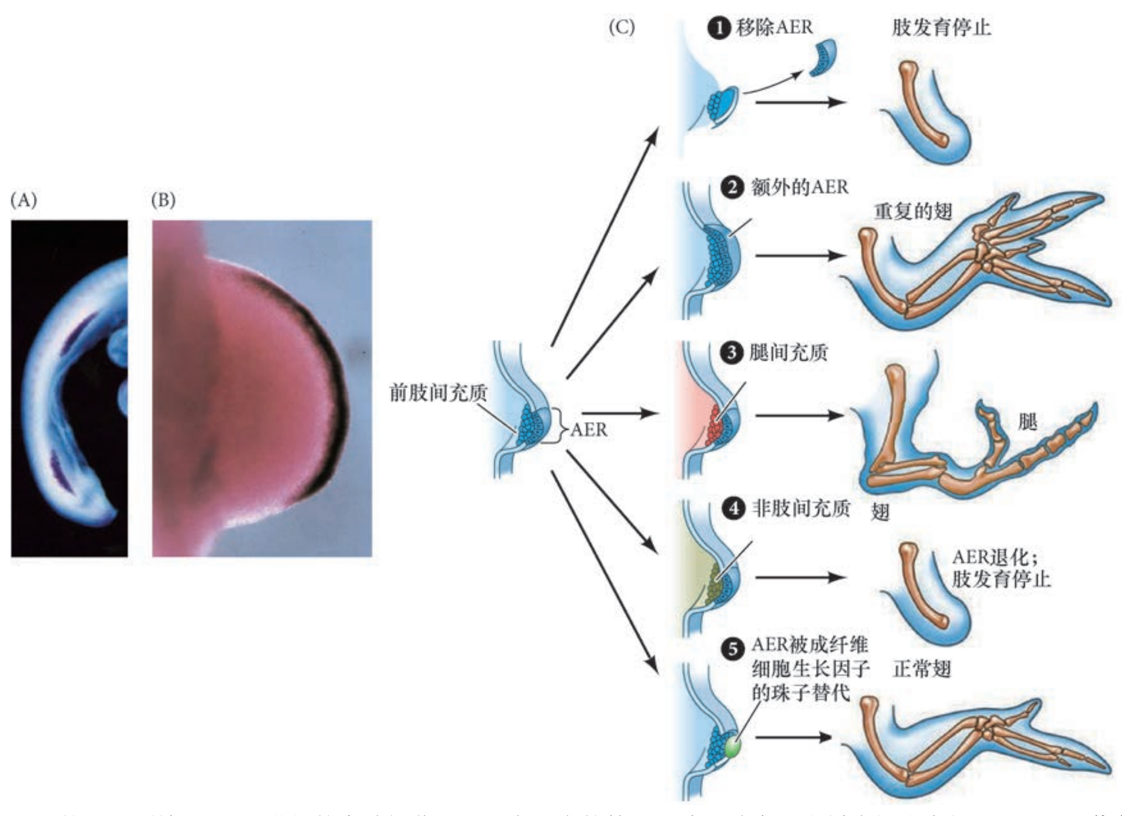


图 19.12　对外胚层顶嵴（AER）进行的实验操作。（A）在正常的第 3 天鸡胚胎中，成纤维细胞生长因子 -8（深紫色）表达在前肢芽和后肢芽的外胚层顶嵴。（B）成纤维细胞生长因子 -8 的 mRNA 在外胚层顶嵴的表达，它是下部中胚层细胞的有丝分裂信号源。（C）证明外胚层顶嵴影响下部间充质的实验总结（A 图由 A. López-Martínez 和 J. F. Fallon 提供；B 图由 J. C. Izpisúa-Belmonte 提供；C 图参考 Wessells 1977）。

2. 如果将一个额外的外胚层顶嵴移植到一个已有的肢芽中，这样就会形成一些额外的结构，通常是朝向肢的远端。
3. 如果将腿部间充质置入翅外胚层顶嵴的下部，一些远端后肢结构（趾）就会在肢的端部发育。然而，如果这种间充质被放置在远离外胚层顶嵴的位置，后肢（腿）间充质就会被整合入翅结构。
4. 如果肢间充质在外胚层顶嵴下部被非肢间充质替代，外胚层顶嵴就会退化，肢的发育就会终止。

因此，虽然间充质细胞诱导和维持外胚层顶嵴，并决定将要形成的肢类型，但是外胚层顶嵴参与肢的持续性外向生长和发育（Zwilling 1955；Saunders et al. 1957；Saunders 1972；Krabbenhoft and Fallon 1989）。外胚层顶嵴将其下部的间充质细胞维持在一个有丝分裂的增殖状态，并阻止它们形成软骨（见 ten Berge et al. 2008）。

成纤维细胞生长因子和 Wnt 蛋白也调节早期肢芽的形状和生长。初始的肢间充质细胞并非随机地组织。相反，它们呈现出一个极性，使得它们垂直于外胚层而延伸长轴（Gros et al. 2010；Sato et al. 2010）。Wnt 信号似乎决定这个取向，并且还在外胚层的平面上促进细胞分裂，使得肢芽向外延伸。成纤维细胞生长因子信号促进细胞迁移的速度，使得细胞向远端迁移。这样，肢芽在向远端（成纤维细胞生长因子 -8 的源头）生长时，在前 - 后轴方向上变平。

成纤维细胞生长因子 -8 是外胚层顶嵴的主要活性因子，分泌成纤维细胞生长因子 -8 的珠子能替代外胚层顶嵴对肢生长的诱导（见图 19.12C，第 5 排）。外胚层顶嵴还合成其他成纤维细胞生长因子，包括成纤维细胞生长因子 -4、成纤维细胞生长因子 -9 和成纤维细胞生长因子 -17（Lewandoski et al. 2000；Boulet et al. 2004）。然而，任何一种成纤维细胞生长因子的缺失对骨骼的图式仅产生轻微的缺陷或不产生缺陷，说明这个家族对肢的图式化有明显的功能冗余。但是，对多个成纤维细胞生长因子基因的敲除证明，每

增加一个成纤维细胞生长因子基因的敲除会导致越来越严重和特异的骨骼畸形，这个结果支持一个观点，即来自外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子对肢的图式化有某些调控作用（见图 19.9B，C，红色箭所示；Mariani et al. 2008）。

科学家讲座 19.4 Francesca Mariani 博士关于成纤维细胞生长因子信号对近 - 远端图式化的指令性作用的网络会议。

网络话题 19.1 **外胚层顶嵴的诱导** 这个复杂的事件涉及外胚层背侧和腹侧区室之间的相互作用。Notch 途径可能有关键作用；错误表达这个途径的基因能引起肢的缺失或重复。

19.5.2 特化肢中胚层：决定近 - 远端极性

外胚层顶嵴的作用 在 1948 年，John Saunders 做了一个简单而深刻的观察：如果在早期翅芽中移除外胚层顶嵴，只有肱骨才能形成；如果在稍后时期移除外胚层顶嵴，肱骨、桡骨和尺骨都能形成（Saunders 1948；Iten 1982；Rowe et al. 1982）。解释这是如何发生的并没有那么容易。首先，必须确定近 - 远端极性的位置信息是位于外胚层顶嵴还是位于渐进带间充质。一系列的相互移植实验发现这种特异性存在于间充质。如果外胚层顶嵴提供这个位置信息，即以某种方式指令下部未分化的中胚层形成哪些结构，那么较晚期的外胚层顶嵴与较早期的中胚层结合在一起后应该产生缺失中段的肢，而较早期的外胚层顶嵴与较晚期的中胚层结合在一起后应该产生重复的结构。但实际情况并非如此；相反，在两种实验中都产生了正常的肢（Rubin and Saunders 1972）。但是，当早期胚胎的整个渐进带（包括中胚层和外胚层顶嵴）被置入晚期胚胎的肢芽时，除了已有的结构之外，还产生了新的近端结构（图 19.13A）。反过来，当晚期的渐进带被移植到新的肢芽时，就会发育出远端结构，致使指出现在肱骨上，两者之间没有尺骨和桡骨（图 19.13B；Summerbell and Lewis 1975）。这些实验证明，间充质沿近 - 远轴特化骨骼特征，但也引出了下一个问题：“如何”？

肢图式化的梯度模型 在 2010 年，关于鸡中的肢图式化的证据产生了一个反向的双梯度模型：一个是来自远端外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子和 Wnt 梯度，另一个是来自近端侧翼组织的视黄酸梯度（图 19.14A）。这种双梯度解释之前曾被用于两栖类肢的再生（见 Maden 1985；Crawford and Stocum 1988），甚至被认为参与胚胎肢的图式化（见 Mercader et al. 2000）。这个模型的实际证据最终来自美国的 Cooper 及其同事和西班牙的 Roselló-Díez 及其同事进行的间充质移植实验（Cooper et al. 2011；Roselló-

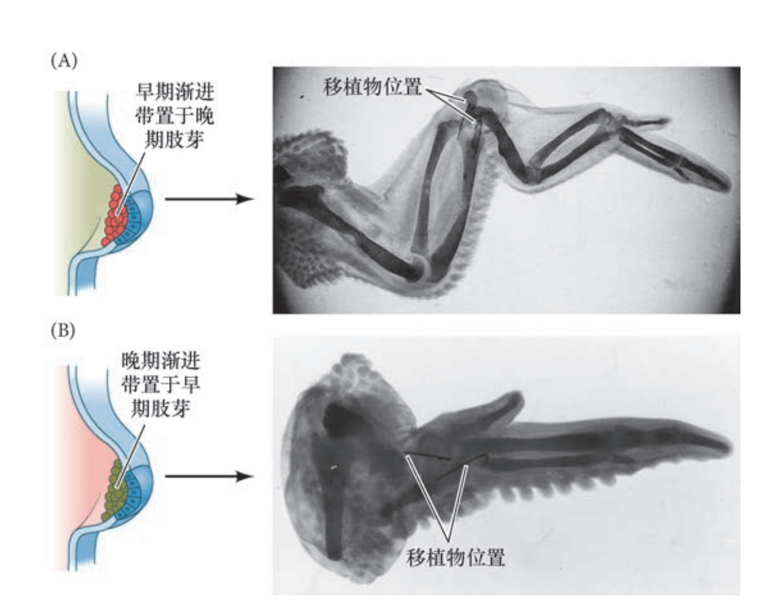


图 19.13 肢近 - 远端特化的调控与渐进带间充质的时期相关。(A) 早期翅芽渐进带被移植到已经形成尺骨和桡骨的晚期翅芽时产生额外一组尺骨和桡骨。(B) 晚期翅芽渐进带被移植到早期翅芽时，肢的中间结构出现缺失（来自 Summerbell and Lewis 1975，由 D. Summerbell 提供）。

袖珍指南

对 John Saunders 博士的采访包括他关于肢发育研究的一些视频，这些工作证明了外胚层顶嵴和极性活性区是调控肢形成的两个主要信号中心。他的移植研究为肢形成机制的分子鉴定提供了基本框架。

Díez et al. 2011）。

研究人员取出未分化的肢芽间充质细胞，将它们“重新包装”到早期肢芽的外胚层中。果然，间充质的发育时期决定了将要形成的骨骼类型。但是，如果在有 Wnt 和成纤维细胞生长因子的情况下用视黄酸处理早期肢芽间充质，这样就会形成更近端的（肢柱方向）骨骼类型；如果仅用成纤维细胞生长因子和 Wnt 处理间充质，这样会形成更远端的（肢梢方向）骨骼类型（**图 19.14B，C**）。此外，如果成纤维细胞生长因子的作用受到抑制，骨骼就会变成更近端的类型；如果视黄酸的合成受到抑制，骨骼则变成更远端的类型。因此，来自侧翼的视黄酸对骨的近端化和来自外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子及 Wnt 对骨的远端化似乎存在一种平衡。反向的梯度可能通过在间充质中建立转录因子的分节图式来实现这一平衡。这可能是细胞特化的一种常见机制，正如我们在早期果蝇胚胎中看到的那样（见第 9 章）。

视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8 的功能行为使这个模型有了机制性支持。如我们之前针对前肢场形成的描述，视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8 之间至少在两个水平上呈现出一种互相拮抗关系：直接抑制和靶基因的差异性调节（见图 19.14A）。视黄酸是成纤维细胞生长因子 -8 表达的直接转录抑制物（Kumar

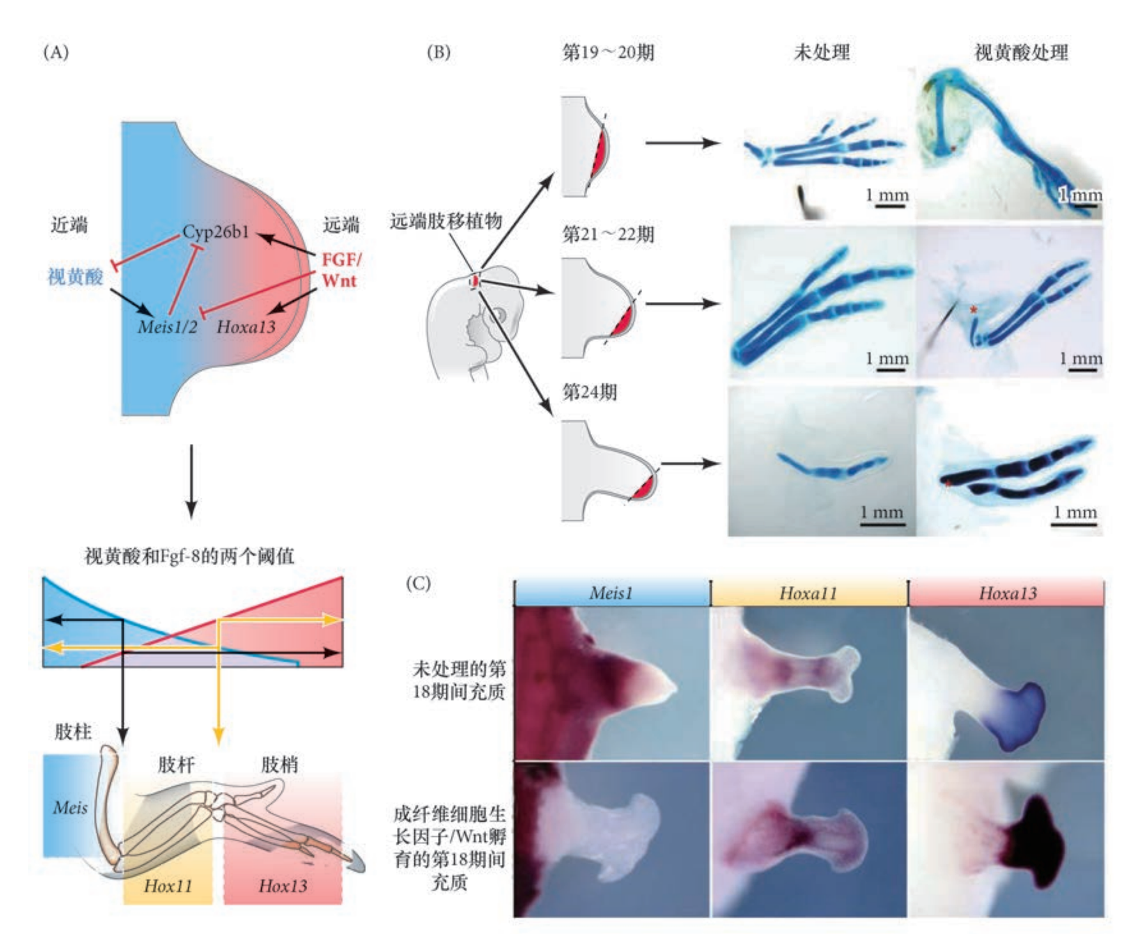
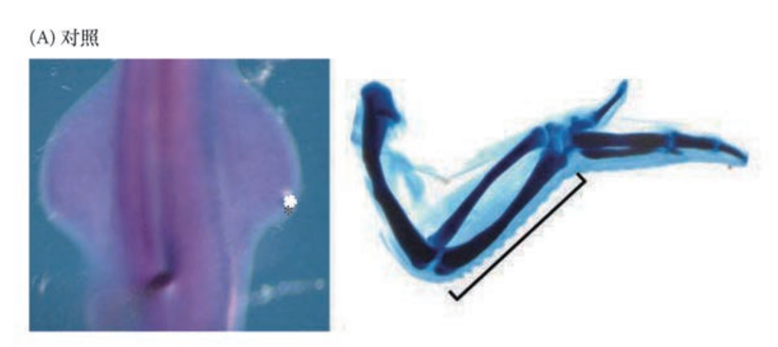


图 19.14　(A) 肢图式化的模型，近 - 远轴通过近端侧翼的视黄酸（蓝色阴影）及远端外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子 (FGF) 和 Wnt（粉色阴影）的反向梯度而产生。(B) 鸡胚胎中的移植步骤，显示肢芽顶端被移植到另一个鸡胚胎的头部区域。肢芽顶端或者不被处理，或者通过置入一个浸泡视黄酸的珠子而予以处理（星号标记珠子的位置）。结果显示视黄酸使移植的间充质所形成的骨发生出现近端化。未处理的肢芽顶端（阴影）根据发育时期形成特定的肢软骨。但是，肢芽顶端经过 1mg/mL 的视黄酸处理后，这样形成的骨骼变得更为近端。(C) 用成纤维细胞生长因子和 Wnt 处理移植的间充质（深色染色）改变了近 - 远端特定转录因子的表达图式。*Meis1* 在肢柱特异表达，*Hoxa11* 在肢杆特异表达，*Hoxa13* 在肢梢特异表达。最早期肢芽（第 18 期）的间充质将形成所有三种软骨类型。但是，如果先用成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt3a 孵育间充质，肢梢转录因子 (*Hoxa13*) 大量表达，而肢柱标记物基因 (*Meis1*) 的表达急剧降低。在培养中添加视黄酸对维持 *Meis1* 在近端表达的能力是必需的（未显示）(A 图参考 Macken and Lewandoski 2011；B 图参考 Roselló-Díez et al. 2011；C 图参考 Cooper et al. 2011，照片由作者提供）。

and Duester 2014)；因此，随着肢芽外向生长的进行，外胚层顶嵴（及成纤维细胞生长因子 -8 的源头）将移动到视黄酸的可及范围之外，这使得成纤维细胞生长因子 -8 的表达不断增多。以更直接的方式拮抗视黄酸的作用，成纤维细胞生长因子 -8 上调能够直接降解视黄酸的细胞色素 P450 家族成员 26(CYP26) 蛋白 (Probst et al. 2011)。另外，视黄酸和成纤维细胞生长因子 -8 差异性地调节近 - 远端决定基因的表达，如肢柱中的 *Meis1/2*、肢杆中的 *Hoxa11* 和肢梢中的 *Hoxa13*(Cooper et al. 2011)。视黄酸促进更近端 *Meis1* 的表达，而成纤维细胞生长因子 -8 则抑制这个基因的表达。这种反向调控关系同样适用于更远端的 *Hoxa13*（见图 19.14A，C)。视黄酸对 *Meis1* 的上调是保护性的，因为 Meis1 蛋白除了促进最近端细胞的命运之外，还能抑制 *CYP26b1* 的转录。事实上，最近对这个模型的细化显示出两个不同的视黄酸到成纤维细胞生长因子 -8 信号的阈值。一个相对高的视黄酸到成纤维细胞生长因子 -8 阈值决定肢柱到肢杆的过渡，而一个相对低的阈值决定肢杆到肢梢的过渡 (Roselló-Díez et al. 2014)。此外，对于肢梢基因 (*Hoxa13*) 的表达似乎有一种表观遗传控制，以保障肢杆发育所需的时间。将浸泡曲古抑菌素 A 的珠子置入早期肢芽中对组蛋白脱乙酰酶进行药理学抑制，这样会导致 *Hoxa13* 的过早表达，并能特异性地减少肢杆的骨骼组分（**图 19.15**；Roselló-Díez et al. 2014)。

总之，这些数据支持鸡的肢中近 - 远端图式化的一个双重梯度模型 (Roselló-Díez et al. 2014；Tanaka 2013；Cunningham and Duester 2015；Zuniga 2015)。图式化的时期起始于侧板中胚层出现肢形成的迹象之前，视黄酸在侧板中胚层中高度表达并诱导 *Meis1/2* 在整个肢场和早期肢芽的表达（从而支持肢柱的特化)。随后，来自外胚层顶嵴的反向成纤维细胞生长因子 -8 和 Wnt 梯度沿近 - 远轴拮抗视黄酸信号。增殖性的外向生长使外胚层顶嵴远离侧翼，导致视黄酸信号降低而成纤维细胞生长因子 -8 信号增强，直到视黄酸相对于成纤维细胞生长因子 -8 信号的一个阈值触发 *Hoxa11* 基因表达和 *Meis1/2* 下调（引起肢杆分化)。由于 *Meis1/2* 功能的降低，CYP26b1 介导的视黄酸降解加剧，以达到肢梢发育的下一个阈值。尽管此时远端间充质可能具有肢梢命运特化的容许性，但是到染色质的调节能使 *Hoxa13* 转录时，肢梢才开始分化（见图 19.14)。肢梢发育延迟的表观遗传调节能使更多的细胞参与肢杆谱系，从而影响它的大小，这可能是在整个发育中都被用于塑形胚胎的一种重要机制。



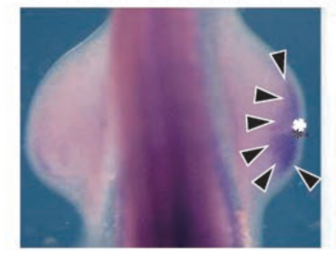




图 19.15 鸡肢中同源异形基因表达的表观遗传调控。(A) *Hoxa13* 在早期肢芽的外向生长过程中通常不表达。(B) 用曲古抑菌素 A 浸泡的珠子（能增强乙酰化和染色质的开放状态）抑制组蛋白的脱乙酰作用，*Hoxa13* 的表达则会上调（箭头)，肢杆严重减少（方括号)。星号显示对照肢芽 (A，没有曲古抑菌素 A) 和组蛋白脱乙酰酶被抑制的肢芽 (B，有曲古抑菌素 A) 中珠子的位置（来自 Miguel Torres Sanchez)。

针对双重梯度模型也存在争议。这个模型在很大程度上仅是基于鸡胚胎中的实验数据，其中一些与小鼠中的可比性数据并不一致。最显著的不一致性是，视黄酸在小鼠中对后肢的发育和图式化似乎不是必需的 (Sandell et al. 2007；Zhao et al. 2009；Cunningham et al. 2011，2013)，因此，关于视黄酸和成纤维细胞生长因子 /Wnt 的反向梯度是否像它们在鸡的翅中一样，也在小鼠前肢的发育中起作用，这仍然是一个未解决的问题。然而，很多检测视黄酸缺失的研究显示，尽管小鼠的前肢变短，但它们的图式化却相对正常，包括 *Meis1/2* 的近端表达 (Sandell et al. 2007；Zhao et al. 2009；Cunningham et al. 2011，2013)。

这种缩短的前肢表型被解释为视黄酸在建立早期肢场中起作用，而不是沿近 - 远轴影响图式化。

作为双梯度模型的替代方案，Cunningham 及其同事提出了一个单梯度模型，主要集中在外胚层顶嵴的蛋白质所产生的指令性图式化信号（Cunningham et al. 2013；Cunningham and Duester 2015 综述）。具体来讲，*Meis1/2* 在整个早期肢芽的初始表达特化肢柱命运；然后，远端成纤维细胞生长因子的表达既抑制 *Meis1/2* 的表达，从而阻止远端间充质获得更近端的命运，也通过对 Cyp26b1 的诱导来抑制视黄酸，从而阻止视黄酸干扰远端的图式化。这个单梯度模型的关键是：首先，除了对前肢场的诱导以外，视黄酸不具有一个指令性作用；其次，同源异形基因沿近 - 远轴自主地共线性定时表达（见 Tarchini and Duboule 2006）在没有过量视黄酸信号的情况下将能够正确地图式化细胞命运。

拓展性问题

又一次自主或非自主？看起来目前对肢场（以及对你）的挑战是进一步探索自主与非自主性机制的性质及其相互作用。这个模型应该包括控制发育时间的表观遗传或其他机制。你认为是否有足够的证据支持双重梯度模型，或成纤维细胞生长因子蛋白的远端梯度就已经足够了？

19.5.3 图灵模型：近 - 远端肢发育的反应 - 扩散机制

基因和蛋白质不能产生一个骨骼，但细胞可以。肢柱和肢梢的细胞类型是相同的；不同的只是这些细胞在空间的排列。令人惊奇的是，分离的肢间充质细胞在体外培养时能够自我组织、表达 5′ 端同源异形基因、形成具有软骨棒和结节的肢样结构（Ros et al. 1994），这就引出了一个根本的问题：这些细胞如何“知道”正确地组织在一起？对于胚胎的肢，为什么肢柱仅形成一个软骨成分，而肢杆形成两个、肢梢形成多个？这些细胞周围的梯度怎样告诉它们如何在不同的位置建立不同的骨骼部分？为什么手指和足趾总是位于肢的末端？这些问题的答案可能来自一个模型，它涉及两个或更多个负相互作用信号的扩散。这就是被称为发育图式化的反应 - 扩散机制。

反应 - 扩散模型　反应 - 扩散机制（reaction-diffusion mechanism）是阿兰 • 图灵（1952）建立的一个数学模型，用于解释复杂的化学图式如何从最初是均匀分布的物质中产生出来。图灵是英国数学家和计算机科学家，如 2014 年的电影《模仿游戏》中讲述的那样，他在第二次世界大战时期破译了德国的“恩尼格玛”（“Enigma”）密码。在他去世前两年，图灵为生物学家提供了一个基本的数学模型，用于解释图式如何能够自我组织。尽管一些科学家在 20 世纪 70 年代就开始运用他的模型来图式化肢的软骨发生（Newman and Frisch 1979），但是直到最近，随着实验证据的积累，这个模型才被广泛接受。

图灵模型的独特之处在于他的机制中的“反应”部分。模型中没有对分子预图式的依赖性；相反，两个分子间的相互作用能自发地产生一种不均匀的图式（Kondo and Miura 2010 文章中以容易理解的方式进行了论述）。图灵意识到，这样的图式在仅有一个扩散性形态发生素的情况下将不能发生，但它却能通过两种均匀分布的物质来实现（我们将形态发生素 *A* 称为“激活物”，将形态发生素 *I* 称为“抑制物”），假设每种物质产生的速度都依赖于另一种物质（**图 19.16A，B**）。

图灵模型为“局部自激活 - 侧抑制”（LALI）体系提供了一个基本框架，以产生能被用于驱动发育变化的稳定图式（Meinhardt 2008）。其他“图灵型”反应 - 扩散体系也被细胞使用，具有类似的结果。在图灵模型中，形态发生素 *A* 促进更多形态发生素 *A*（自激活）及形态发生素 *I* 的产生。但是，形态发生素 *I* 抑制形态发生素 *A* 的产生（侧抑制）。图灵运算显示，如果 *I* 比 *A* 更容易扩散，形态发生素 *A* 将产生一些浓度差异的锐波（**图 19.16C**）。

互作信号的扩散最初可能是随机的，但是由于这个“局部自激活 - 侧抑制”型图灵模型中激活物 - 抑制物的动态变化，一种形态发生素将会出现交替的高浓度和低浓度区域，这进而产生差异性的细胞命运。当激活性形态发生素的浓度高于某个特定阈值水平时，一个细胞（或一组细胞）就被指令以某种方式

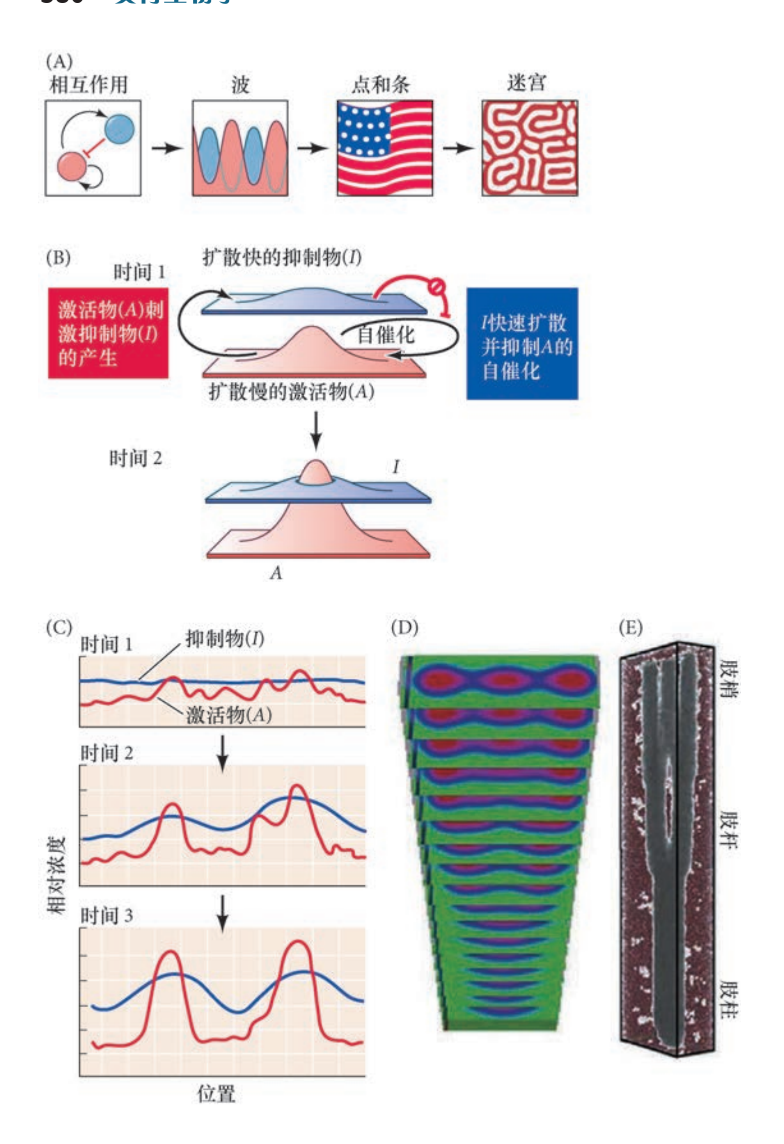


图 19.16 图式产生的反应 - 扩散（图灵）机制。(A) 图灵模型是基于两种因子的相互作用，其中一种因子既能自主激活，也能够激活其自身的抑制物。这些相互作用能产生交替细胞命运的自我形成图式，这可能很像一面旗的条纹或更复杂的迷宫样图式。(B) 当两个反应物——*I* 和 *A*，在 *I* 抑制 *A* 而 *A* 既催化 *I* 也催化 *A* 的生成且 *I* 比 *A* 扩散速度快（时间 1）的条件下被混合在一起时，这样就会自发产生周期性的空间异质性。时间 2 显示反应 - 扩散机制在同一个位置产生一个 *A* 峰和一个低 *I* 峰的条件。(C) 反应物的分布最初是随机的，它们的浓度在一个特定的平均值上波动。随着 *A* 的局部升高，它将产生更多的 *I*，而 *I* 通过扩散来抑制更多 *A* 峰在它产生的位置附近形成。结果是按一定的间隔形成了一系列 *A* 峰（“驻波”）。(D，E) 自我形成的图灵机制将会产生肢成分的计算机模拟。(D) 在鸡的肢发育的连续时期内（从下向上代表时间的递增），激活物形态发生素转化生长因子 -β 的横截面观。转化生长因子 -β 的浓度以颜色显示（低浓度为绿色；高浓度为红色）。(E) 计算机模拟预测的细胞致密形成骨（灰色）的三维视图。肢每个区域内“骨”的数量与发育过程中转化生长因子 -β 浓度峰的数量相关，如 D 图所示 (A 图来自 Kondo et al. 2010；D 图和 E 图来自 Zhang et al. 2013)。

分化。

肢上的“图灵” 图灵模型被应用于肢发育时产生了迷人的结果（图 19.16D，E)。反应 - 扩散动力学似乎能告诉我们肢芽如何获得近 - 远轴极性，以及指的数量如何在肢远端受到调节（图灵和指将在本章后面讨论）。反应 - 扩散体系被认为足以建立前软骨和非软骨组织的图式 (Zhuet al. 2010)。

Stuart Newman 的实验室证明，反应 - 扩散机制能图式化肢间充质，而且大小和形状都很重要 (Hentschel et al. 2004；Chaturvedi et al. 2005；Newman and Bhat 2007；Zhu et al. 2010；Zhang et al. 2013 综述）。在图灵框架下对肢软骨发生进行数学建模需要鉴定出一些关键的参数。在沿近 - 远轴的软骨发生过程中，外胚层顶嵴被认为能将肢分成两个区域：抑制区域（也被称为顶端带），即外胚层顶嵴下部的最远端间充质，其中的前软骨组织致密受到抑制；活性带，位于邻近抑制区域的近端，并且是形成软骨的一些致密出现聚结的形态发生活跃区域。第三个区域是远离外胚层顶嵴影响的“冻结带”，在发育的肢近端区域含有已经形成的骨骼软骨原基（图 19.17)。

如前所述，Gros 及其同事 (2010) 发现，外胚层顶嵴分泌的 Wnt 和成纤维细胞生长因子蛋白在下部的间充质中诱导细胞分裂和生长的特定图式。此外，外胚层顶嵴分泌的因子将最远端的间充质维持在一个可塑的未分化状态 (Kosher et al.1979)，这个信号在一定程度上受成纤维细胞生长因子受体 -1 所介导。图灵参数适用于肢间充质更近端的活性带。在组织水平和数学模型的微分方程层面，活性带和冻结带可以

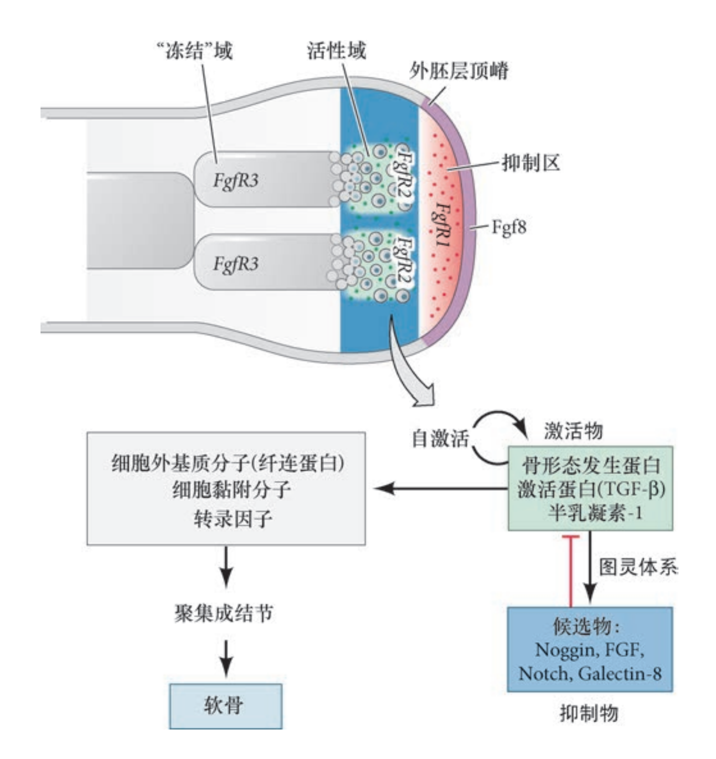


图 19.17　肢近 - 远端特化的反应 - 扩散机制。在紧邻外胚层顶嵴外围的抑制区域，成纤维细胞生长因子（FGF）和 Wnt 维持细胞分裂，阻止它们形成软骨。在这个区域后部的活性区，软骨性结节根据反应 - 扩散机制活跃形成。在这里，每个细胞分泌并能应答转化生长因子 -β（TGF-β）家族的激活性旁分泌因子（转化生长因子 -β、骨形态发生蛋白、激活蛋白）和细胞黏附因子，如半乳凝素 -1（Galectin-1）。这些因子刺激它们自身，以及一些促进聚集的细胞外基质和细胞黏附分子的合成。激活性细胞也刺激扩散性聚集抑制物，如头蛋白（Noggin）和半乳凝素 -8（Galectin-8）的合成，阻止周围区域的细胞黏附。结节能够形成的位置受肢芽的几何形状决定（即几何形状决定多少可被允许的激活物“波”）。在“冻结”区，聚集的结节能分化成软骨，因此“冻结”这个构象。*Fgfr3*：成纤维细胞生子因子受体（参考 Zhu et al. 2010）。

通过它们分别表达的成纤维细胞生长因子受体 -2 和成纤维细胞生长因子受体 -3 被进一步确定（Szebenyi et al.1995；Hentschel et al. 2004）。活性带内的肢间充质细胞合成软骨结节形成的激活物。这些激活物包括转化生长因子 -β、骨形态发生蛋白、激活蛋白，以及一些称为半乳凝素的糖类结合蛋白。半乳凝素能诱导细胞黏附分子和细胞外基质蛋白（如纤连蛋白）的形成，这些蛋白质使细胞聚集在一起形成软骨性骨骼。但是，这些相同的细胞也合成聚集的抑制物，如头蛋白和抑制性半乳凝素。这样，已经产生的成软骨聚集体抑制它们周围的区域形成更多的聚集体（见图 9.17，下排）。为肢提供更多的空间分配能使更多的聚集体得以形成。

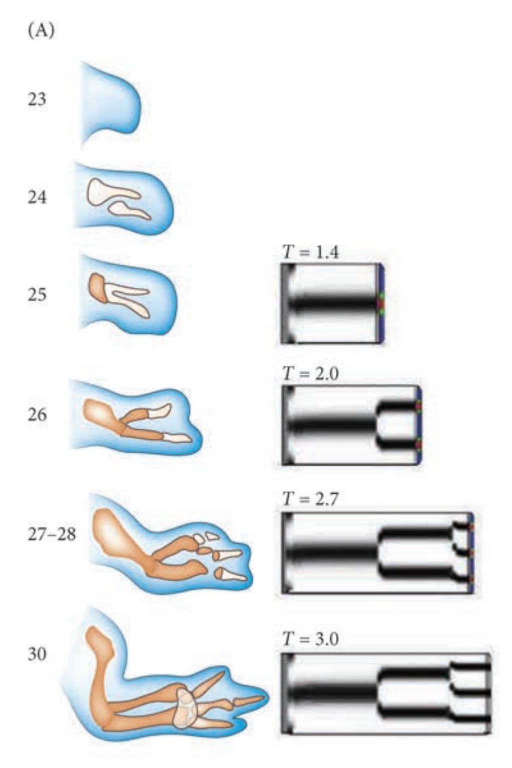
不同大小的肢能形成不同数量的前软骨致密。首先，只有一个致密能被容纳（肱骨），然后有两个（尺骨和桡骨），再然后有多个（腕，指）。在这个反应 - 扩散假说中，前软骨间充质聚集体从周围区域活跃招募更多的细胞，同时侧向抑制其他致密灶的形成。所以，这些致密的数量取决于活性带的几何结构和侧向抑制的强度。一旦形成，间充质聚集体便相互作用，不仅招募更多细胞，也表达标示软骨特征的转录因子和细胞外基质，如 Sox9 和胶原蛋白 -2（Lorda-Diez et al. 2011）。

根据这个模型，合成和抑制波将会形成肢的初始图式。通过设置一些限定，如几何形状、扩散性，以及激活物和抑制物的合成与降解速度，Zhu 及其同事模拟了随着肢芽生长所形成的骨骼类型。首先，计算机模型精确地模仿了肢的正常图式化（**图 19.18A**）；然后，它模拟了实验操作（**图 19.18B**）和突变（**图 19.18C**）所形成的畸形骨骼。改变几何形状也能产生一些在化石肢中所观察的图式（**图 19.18D**）。

拓展性问题

数学建模能将发育生物学家指引向新的问题和新的实验，图灵模型对于器官发生过程中的图式形成确实达到了这样的效果。例如，活性带中哪些因子是主要的“反应性”激活物和抑制物？虽然转化生长因子 -β 是一个被广泛认可的软骨发生激活物的候选因子，但仅有很少的实验数据描述数学模型预测的潜在抑制物。另一个有待评估的参数是细胞运动。

观察发育 19.1　见证基于反应 - 扩散模型逐渐获取骨骼肢体图式的计算机模拟。



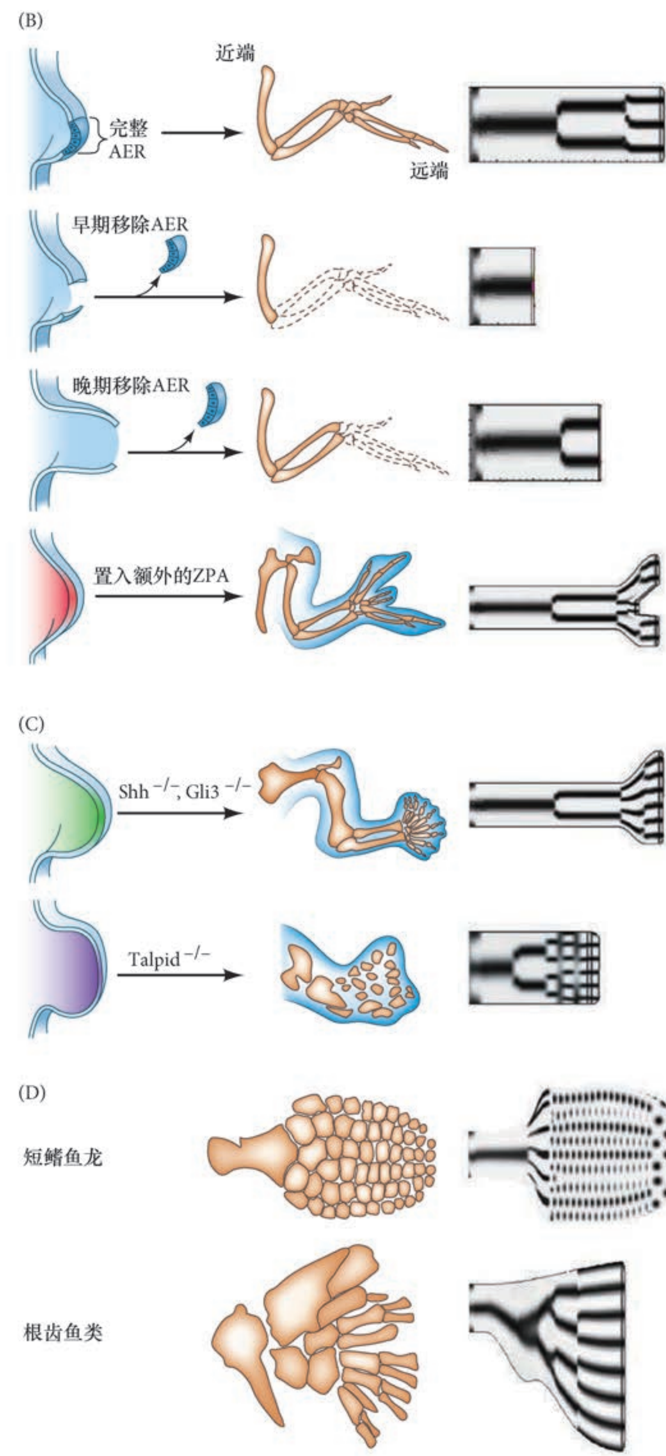


图 19.18 在提供来自实验的肢芽几何参数，以及激活物和抑制物的扩散、合成和降解速率后，可以对肢发育进行计算机模拟。(A) 这个模型预测了一个肢柱、成对的肢杆及肢梢的多个软骨棒的顺序性形成。左侧是鸡胚胎的发育时期。*T*（时间）是为比较计算机生成的时期而设置的任意单位。(B，C) 鸡的模型也模拟了实验操作 (B) 和突变 (C) 所导致的骨骼畸形图式。(D) 轻微改变一些参数也能产生化石中所观察的肢骨骼，如鱼样的水生爬行动物短鳍鱼龙 (*Brachypterygius*)（其前肢具有桨样的形状）和根齿鱼类 (*Sauripterus*)（最早的陆生爬行动物之一）。AER：外胚层顶嵴；ZPA：极性活性区（参考 Zhu et al. 2010）。

19.6 前 – 后轴的特化

肢前 - 后轴的特化是在肢芽细胞潜能中对多潜能状态的最早限制。在鸡胚胎中，这个轴在肢芽可被识别之前受到特化。

19.6.1 *Sonic hedgehog* 确定极性活性区

Viktor Hamburger (1938) 证明，早在 16 体节期，未来翅中胚层被移植到侧翼区域时发育形成一个

肢，具有供体移植物的前 - 后和背 - 腹极性，而不是宿主组织的极性。后来的一些实验（Saunders and Gasseling 1968；Tickle et al. 1975）说明，前 - 后轴受早期肢芽和体壁后部交界处附近的一小团中胚层细胞特化。如果将早期肢芽中这个区域的组织移植到另一个肢芽前端的位置，在形成的翅中指的数目就会加倍（图 19.19）。而且，额外一组指的结构与正常发育形成的指结构呈镜像对称。极性也会被保持下来，但这时的信息来自前后两个方向。因此，这个中胚层区域被称为**极性活性区**（**zone of polarizing activity**，**ZPA**）。

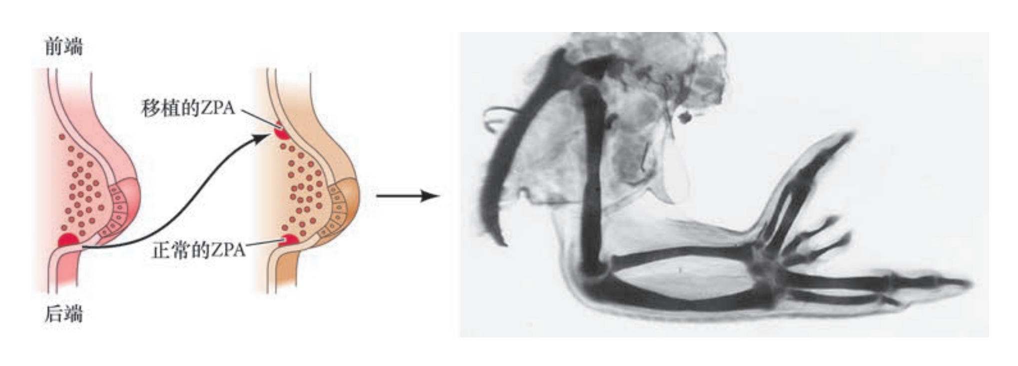


图 19.19　极性活性区（ZPA）被移植到前部肢芽中胚层时，重复的指呈现出正常指的镜像（参考 Honig and Summerbell 1985；照片由 D. Summerbell 提供）。

对赋予极性活性区的极性活性分子的鉴别成为发育生物学中最深入的探索之一。1993 年，Riddle 及其同事通过原位杂交发现，*Sonic hedgehog*（*Shh*），即果蝇 *hedgehog* 基因的脊椎动物同源物，特异地表达在已知是极性活性区的肢芽区域（图 19.20A）。作为极性活性区和 Sonic hedgehog 之间的这种联系不仅只是一种相关性的证据，Riddle 及其同事（1993）证明，Shh 蛋白的分泌对极性活性是充分条件。他们用含有 *Shh* 基因的病毒载体转染通常不合成 Shh 蛋白的鸡胚胎成纤维细胞（图 19.20B）。这个基因在这些成纤维细胞中表达、翻译并分泌，然后细胞被置入早期鸡肢芽前端外胚层的下部。这样就产生了镜像重复的指，与极性活性区移植物所诱导的指很类似。此外，含有 Shh 蛋白的珠子能引起相同的重复（López-Martínez et al. 1995；Yang et al. 1997）。因此，Sonic hedgehog 似乎是极性活性区的活跃成分。

这一事实被一个引人注目的功能获得突变体所证明。小鼠的 *hemimelic extra-toes*（*hx*）突变体在爪的拇指侧具有额外的趾（图 19.21A，B）。这种表型与肢特异性 *Shh* 增强子上一个单碱基对的差异相关，这是一个高度保守的区域，位于远离 *Shh* 基因上游（大约 100 万个碱基对）的位置（Lettice et al. 2003；

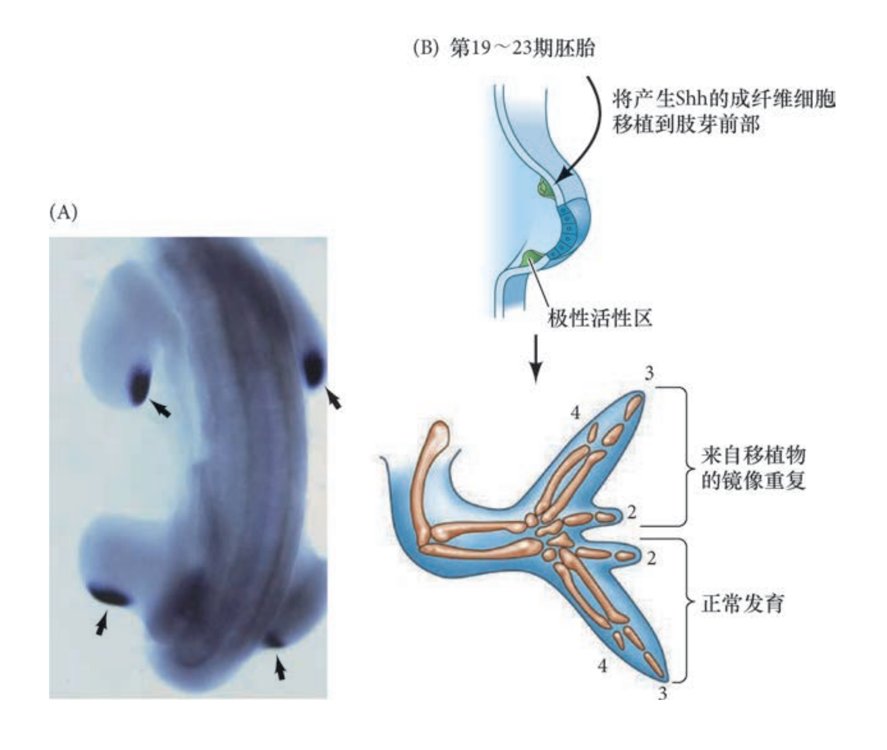


图 19.20　Sonic hedgehog 蛋白表达在极性活性区。(A) 原位杂交显示 Sonic hedgehog（箭所示）表达在鸡肢芽的后部中胚层。这些区域正是被移植实验所确定的极性活性区。(B) Shh 足以行使极性活性区的功能。当 Shh 异位表达在鸡胚胎肢芽的前部边缘时（通过移植表达 Shh 的重组细胞），这样形成的肢呈现出镜像重复的指（A 图由 R. D. Riddle 提供；B 图参考 Riddle et al. 1993）。

Sagai et al. 2005)。Maas 和 Fallon(2005) 将 β- 半乳糖苷酶基因分别与野生型和 *hx* 突变体的这个远距离肢增强子融合，构建成报道载体。他们将这些报道载体注射到刚受精小鼠卵的原核，以获得转基因胚胎。在携带野生型肢增强子报道基因的转基因小鼠胚胎中，β- 半乳糖苷酶活性的染色显示每个肢芽的后部中胚层都有一块表达区域，也就是在极性活性区中表达（**图 19.21C**)。但是，携带突变型 *hx* 报道载体的小鼠在肢芽的前部和后部区域都有 β- 半乳糖苷酶活性（**图 19.21D**)。因此，看起来这个增强子同时具有正调控和负调控功能；而且在肢芽的前部区域，某些抑制因子阻遏这个增强子激活 *Shh* 转录的能力。这个抑制物很可能无法结合突变的增强子，因此，在 *hx* 突变体小鼠中，Shh 在肢芽的前部和后部区域都表达，而 Shh 在前部的表达导致额外趾的发育。在人类和其他哺乳动物中，Shh 的长距离肢增强子上类似的突变产生多指畸形的表型（**图 19.21E，F**；Gurnett et al. 2007；Lettice et al. 2008；Sun et al. 2008)。

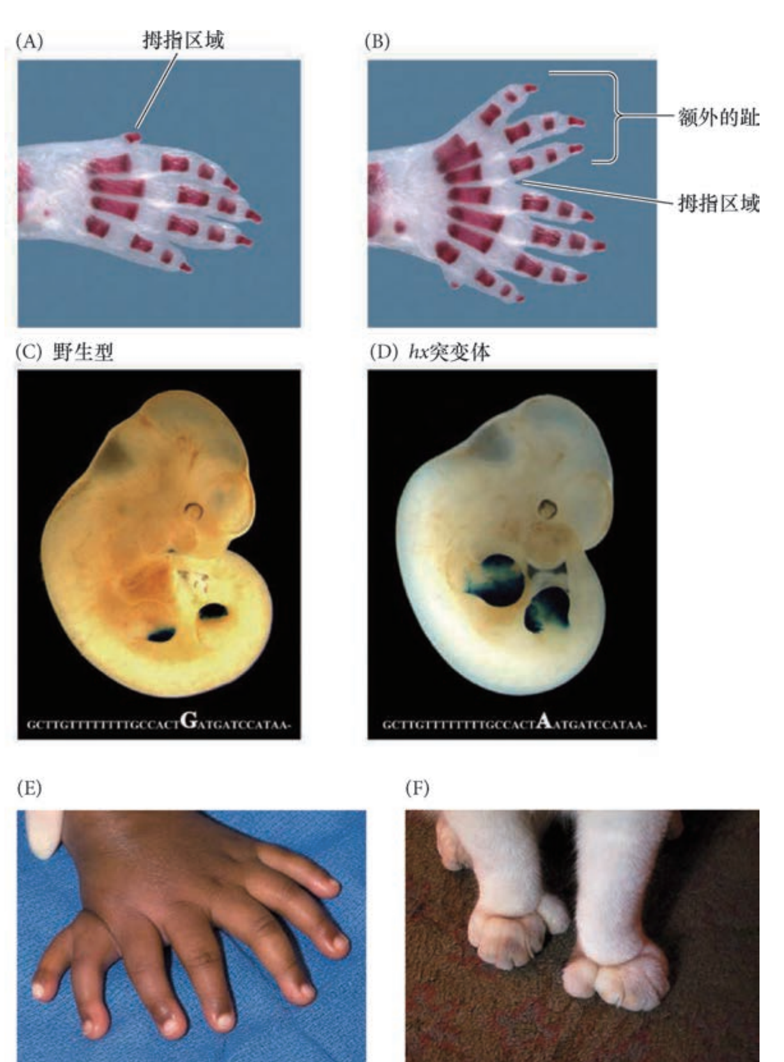


图 19.21 肢前部 *Sonic hedgehog* 的异位表达导致额外趾的形成。(A) 野生型的小鼠爪，骨骼被茜素红染色。(B) *hx*(*hemimelic extra-toes*) 突变体小鼠的爪，显示与前部（“拇指”）相连的额外趾。后端骨上小的额外结节是这个遗传背景下 *hx* 表型所特有的，在其他遗传背景下没有这个表型。(C) 野生型 *Shh* 肢增强子的报道载体仅在小鼠每个肢芽的后部分指令转录（即在极性活性区）。(D) 来自 *hx* 突变体的报道载体在小鼠每个肢芽的前部和后部都能指令转录。野生型和突变型 *Shh* 肢特异增强子区域的 DNA 序列显示在图的下面，突出了区分两者的单个 G 到 A 碱基替换。(E) 人的 *SHH* 长距离增强子上一个类似的突变造成相似的镜像手重复。(F) 欧内斯特 • 海明威的多指宠物猫的后代仍然居住在佛罗里达西锁岛 (Key West) 海明威的家中，它的这个长距离增强子上也出现一个突变 (A ～ D 图来自 Maas and Fallon 2005，由 B. Robert、Y. Lallem、S. A. Maas 和 J. F. Fallon 提 供；E 图来自 Yang and Kozin 2009，由 S. Kozin 提供；F 图是 S. Gilbert 拍摄的照片）。

19.6.2 Sonic hedgehog 特化指的特征

Sonic hedgehog 如何特化指的特征？科学家对极性活性区的 Shh 分泌细胞进行精细的命运图谱实验时，他们惊奇地发现，在任何时间曾表达 Shh 的细胞不会像外胚层顶嵴那样行使功能后便发生细胞凋亡（程序性细胞死亡；见第 15 章）。相反，Shh 分泌细胞的后代将变成后肢的骨骼和肌肉 (Ahn and Joyner 2004；Harfe et al. 2004)。的确，小鼠后肢的第 5 趾和第 4 趾（以及第 3 趾的一部分）形成自 Shh 分泌细胞的后代（**图 19.22**)。

指的特化似乎主要依赖于 *Shh* 基因表达的时间量，其他细胞接收的 Shh 蛋白浓度只有很次要的作

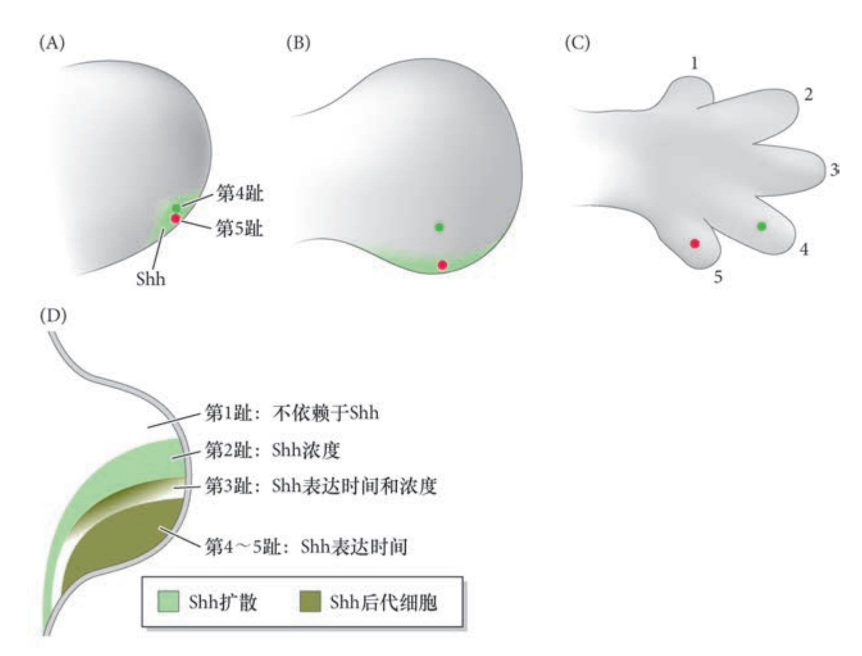


图 19.22　小鼠肢中 Shh 分泌细胞的后代形成第 4 趾和第 5 趾，并参与第 2 趾和第 3 趾的特化。(A) 在小鼠早期的后肢芽中，第 4 趾（绿点）的祖细胞和第 5 趾（红点）的祖细胞都位于极性活性区，并表达 Sonic hedgehog（浅绿色阴影）。(B) 在肢发育的后期，形成第 5 趾的细胞仍在极性活性区中表达 Shh，但形成第 4 趾的细胞不再表达 Shh。(C) 在趾形成时，第 5 趾的细胞比第 4 趾的细胞更长时间地接触高水平的 Shh 蛋白。(D) 示意图显示，第 4 趾和第 5 趾受它们以自分泌方式接触 Shh 的时间量所特化；第 3 趾受细胞以自分泌和旁分泌方式接触 Shh 的时间量所特化。第 2 趾受它的细胞以旁分泌扩散方式接收的 Shh 浓度所特化，第 1 趾的特化不依赖于 Shh（参考 Harfe et al. 2004）。

用（见 Tabin and McMahon 2008）。第 4 指和第 5 指之间的差异是因为更后部的第 5 指表达 *Shh* 的时间更长，而且接触 Shh 蛋白（以一种自分泌的方式）的时间也更长。组成第 3 指的细胞分泌 Shh 的时间比第 4 指的细胞要短，而且它们也都依赖于极性活性区 Shh 的扩散（如果 Shh 受到修饰而不能扩散远离细胞，第 4 指将会缺失）。第 2 指的特化完全依赖于 Shh 的扩散，而第 1 指的特化则独立于 Shh。的确，在一个自然发生的鸡突变体中，肢中没有 Shh 的表达，这样就仅形成第 1 指。而且，如果在小鼠的肢中条件性地敲除 Shh 和 Gli3 的基因，这样形成的肢就具有很多指，但这些指缺少明显的特征（Litingtung et al. 2002；Ros et al. 2003；Scherz et al. 2007）。Vargas 和 Fallon(2005) 提出，第 1 指在没有 *Hoxd12* 的情况下受 *Hoxd13* 特化。在整个指原基中强制性表达 *Hoxd12* 导致第 1 指被转变为更后部的指（Knezevic et al. 1997）。

通过条件性地敲除小鼠的 *Shh* 基因（研究人员可以在小鼠的不同发育时期终止 Shh 的表达），Zhu 和 Mackem(2011) 发现 Sonic hedgehog 以两种时间上不同的机制发挥作用。第一阶段涉及指特征的特化（从后部的小指到前部的拇指）。在这个阶段，Shh 作为形态发生素，使指的特征首先被相应肢芽区域 Shh 的浓度所特化，然后被接触 Shh 的时间所特化。在第二阶段，Shh 作为促分裂原，刺激肢芽间充质的增殖和扩张，从而帮助肢芽成形。

Sonic hedgehog 建立指特征的机制可能涉及细胞周期调控和骨形态发生蛋白途径。Shh 的时间和浓度依赖作用导致下游转录效应物 Gli3 的梯度激活。这些靶点包括骨形态发生蛋白拮抗剂 Gremlin、细胞周期调控物 Cdk6（周期蛋白依赖激酶 -6）的基因，以及合成透明质酸（一种细胞黏附成分）的基因。Shh（通过 Gli3）限制软骨祖细胞的增殖（通过下调周期蛋白依赖激酶 -6），并通过抑制骨形态发生蛋白拮抗剂 Gremlin 和上调透明质酸合成酶 -2 来促进它们受骨形态发生蛋白刺激的软骨分化（Vokes et al. 2008；Liu et al. 2012；Lopez-Rios et al. 2012）。

Shh 在整个肢芽中起始并维持骨形态发生蛋白的一个梯度，这个梯度能够特化指（Laufer et al. 1994；Kawakami et al. 1996；Drossopoulou et al. 2000）。但是，指的特征并不是在每个指原基中被直接特化。相反，每个指的特征受指间中胚层决定，也就是受指之间的蹼所决定（这个间充质区域将随后经历细胞凋亡）。

指间组织在其前部（朝向拇指或大足趾）形成的指中特化指的特征。因此，当 Dahn 和 Fallon(2000) 将形成鸡后肢第 2 指和第 3 指的软骨性致密之间的蹼去除后，第 2 指变成了第 1 指的一个拷贝

（图 19.23A，B）。同样，如果去除第 3 指另一侧的蹼，这个第 3 指就变成了第 2 指的一个拷贝（图 19.23A，C）。此外，变化骨形态发生蛋白的水平能改变蹼的位置信息（图 19.23D ～ F）。每个指都具有特征性排列的一些结节，这些结节将形成指骨骼。Suzuki 及其同事（2008）证明，指间蹼中不同水平的骨形态发生蛋白信号调节渐进带间质细胞向这些形成指的结节的募集。

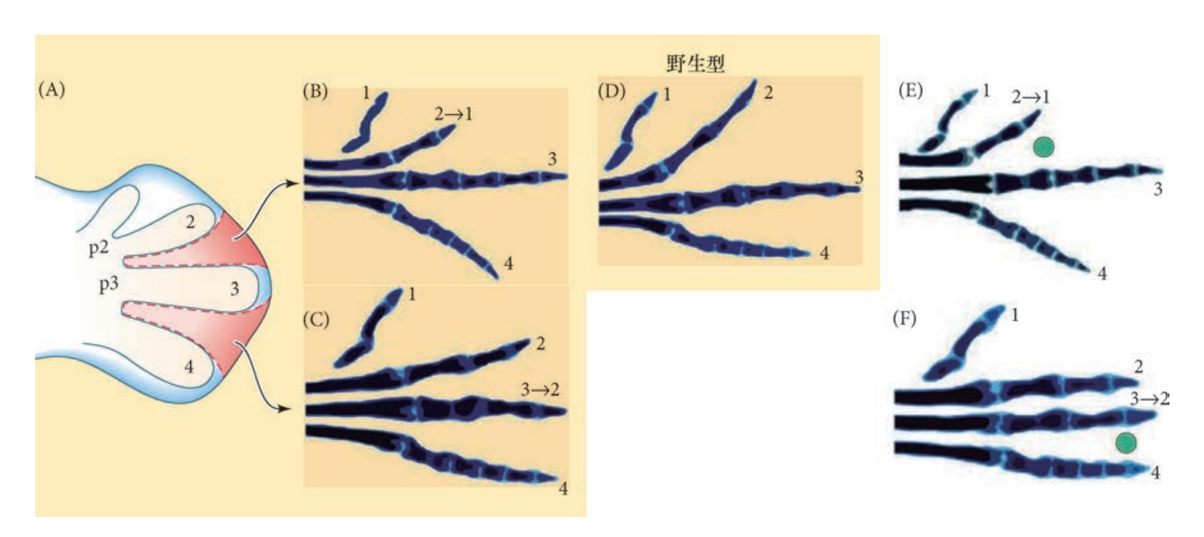


图 19.23 指的特征受指前部指间空隙中骨形态发生蛋白浓度及 Gli3 的调节。(A) 去除指间区域的示意图。(B) 去除第 2 指原基 (p2) 和第 3 指原基 (p3) 之间的指间区域 2 使第 2 指变成第 1 指的结构。(C) 去除指间区域 3（第 3 指原基和第 4 指原基之间）使第 3 指形成第 2 指的结构。(D) 野生型的指及其指间空隙。(E，F) 在指间区域置入含有骨形态发生蛋白抑制物头蛋白的珠子能得到与 (B) 和 (C) 相同的指结构转换。(E) 含有头蛋白的珠子（绿点）被置入指间区域 2 时，第 2 指转变成第 1 指的拷贝。(F) 含有头蛋白的珠子被置入指间区域 3 时，第 3 指转变成第 2 指的拷贝（参考 Dahn and Fallon 2000；Litingtung et al. 2002；B ～ F 图中的照片由 R. D. Dahn 和 J. F. Fallon 提供）。

19.6.3 Sonic hedgehog 和成纤维细胞生长因子：另一个正反馈环

在肢芽相对较小时，中胚层产生的成纤维细胞生长因子 -10 和外胚层产生的成纤维细胞生长因子 -8 之间建立了一个初始的正反馈环，促进肢的外向生长（图 19.24A）。随着肢芽的生长，极性活性区建立，并产生另一个调控回路（图 19.24B）。如果没有依赖于 Shh 的骨形态发生蛋白抑制物 (Gremlin) 的表达，中胚层的骨形态发生蛋白将会下调外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子 (Niswander et al. 1994；Zúñiga et al. 1999；Scherz et al. 2004；Vokes et al. 2008)。极性活性区的 Sonic hedgehog 激活 Gremlin，而 Gremlin 抑制骨形态发生蛋白，从而促进了成纤维细胞生长因子表达的维持及持续的肢芽外向生长。成纤维细胞生长因子反过来抑制 Shh 的阻遏物，以完成这个正向反馈回路。但是，与大多数的多基因信号途径一样，这种相互作用其实更加复杂。

取决于外胚层顶嵴中成纤维细胞生长因子的水平，极性活性区或者被激活，或者被关闭；目前已经证明有两种反馈环（图 19.24C；Verheyden and Sun 2008；Bénazet et al. 2009）。首先，外胚层顶嵴中相对低水平的成纤维细胞生长因子激活 Shh，并维持极性活性区的功能。成纤维细胞生长因子信号似乎抑制 Etv4 和 Etv5，这两个蛋白质是 Sonic hedgehog 转录的阻遏物（见图 21.24B；Mao et al. 2009；Zhang et al. 2009）。因此，外胚层顶嵴和极性活性区通过 Sonic hedgehog 和成纤维细胞生长因子的正反馈环相互支持 (Todt and Fallon 1987；Laufer et al. 1994；Niswander et al. 1994)。在肢芽的更前端区域，成纤维细胞生长因子 -8 正向调节 Etv4/5，而 Etv4/5 反过来在这个区域抑制 Shh，进一步强化极性活性区中从后到前的 Shh 梯度 (Mao et al.2009)。

由于成纤维细胞生长因子信号对 Shh 的刺激，Gremlin 的水平（骨形态发生蛋白的一个强拮抗剂）变高，成纤维细胞生子因子 /Shh 的正反馈环维持肢的生长（图 19.24D）。只要 Gremlin 信号能扩散到

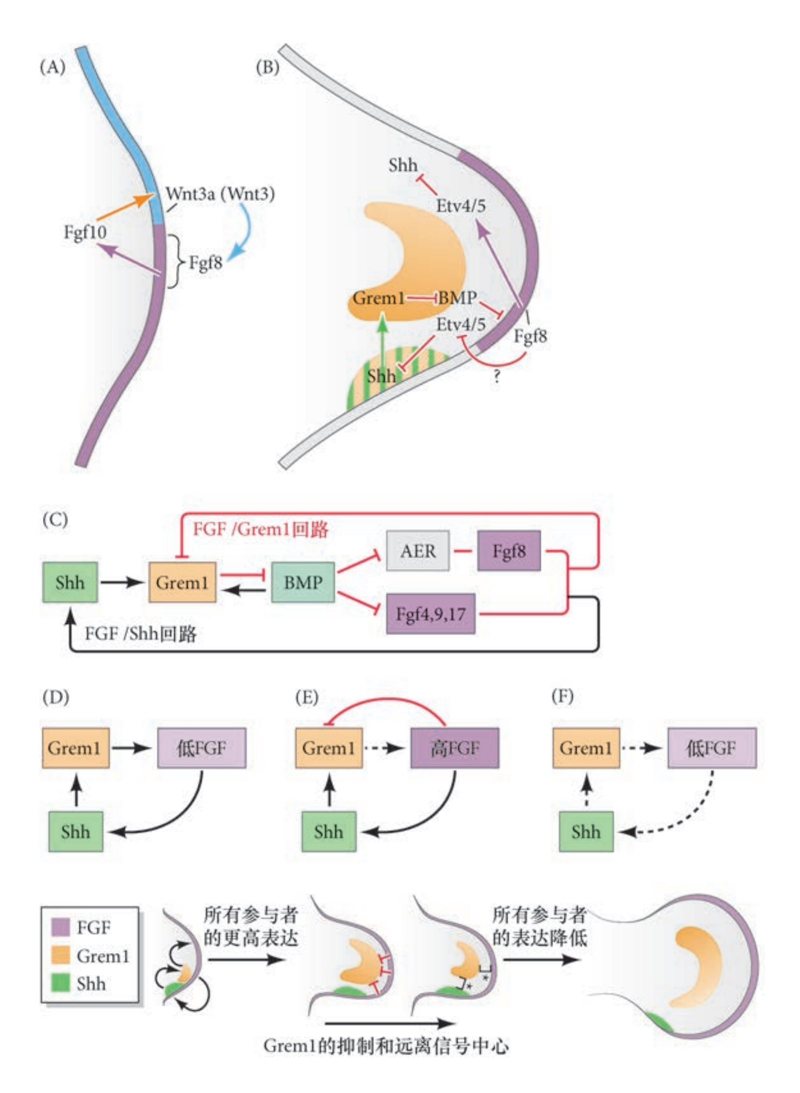


图 19.24 外胚层顶嵴与肢芽间充质之间的早期相互作用。(A) 在肢芽中，侧板中胚层形成的间充质所产生的成纤维细胞生长因子 -10 (Fgf10) 在外胚层中激活一个 Wnt (在鸡中是 Wnt3a；在小鼠和人中是 Wnt3)。Wnt 激活的 β- 联蛋白途径在外胚层顶嵴 (AER) 周围的区域诱导成纤维细胞生长因子 -8 (Fgf8) 的合成。成纤维细胞生长因子 -8 激活成纤维细胞生长因子 -10，产生一个正反馈环。(B) 随着肢芽的生长，后部间充质的 Sonic hedgehog (Shh) 建立了一个新的信号中心，诱导后 - 前极性，它也激活 Gremlin (Grem1)，以阻止间充质的骨形态发生蛋白 (BMP) 信号对外胚层顶嵴中成纤维细胞生长因子 (FGF) 合成的抑制。此外，成纤维细胞生长因子 -8 的部分作用是沿肢芽的前 - 后轴差异性地调节 Etv4/5 (E-twenty-six 转录因子超家族的基因)，这反过来从后部强化 Shh 表达的梯度。(C) 两个反馈回路连接外胚层顶嵴和极性活性区。在正反馈环中 (黑色箭所示；下部)，来自外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子 -4 (Fgf4)、成纤维细胞生长因子 -9 (Fgf9) 和成纤维细胞生子因子 -17 (Fgf17) 激活 Shh，稳定极性活性区。在相互的抑制性回路中 (红色；上部)，来自极性活性区的 Shh 激活 Gremlin (Grem1)，因此阻止外胚层顶嵴中骨形态发生蛋白介导的成纤维细胞生子因子失活。(D) 这些反馈环建立 Shh (极性活性区) 和成纤维细胞生子因子 (外胚层顶嵴) 的互相加速合成。(E) 随着成纤维细胞生子因子浓度的上升，它最终到达一个能够抑制 Gremlin 的阈值，使得骨形态发生蛋白开始抑制外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子。随着更多细胞在不表达 Gremlin 的区域进行增殖，外胚层顶嵴附近的 Gremlin 信号变得太弱而不能阻止骨形态发生蛋白对成纤维细胞生长因子的抑制。(F) 外胚层顶嵴消失，去除了维持极性活性区的信号。极性活性区随后也消失 (A 图和 B 图参考 Fernandez-Teran and Ros 2008；C 图参考 Verheyden and Sun 2008)。

外胚层顶嵴，成纤维细胞生长因子就会产生，外胚层顶嵴也会得以维持。然而，由于成纤维细胞生长因子的水平也相应地升高，这样就在远端间充质产生了一个阻断 Gremlin 表达的负反馈环 (**图 19.24E**)。这种对 Gremlin 合成的抑制配以肢芽的逐渐扩张在最远端间充质中增加了 Gremlin 与信号中心 (外胚层顶嵴和极性活性区) 之间的距离。此时，骨形态发生蛋白终止成纤维细胞生长因子的合成，外胚层顶嵴萎退，极性活性区 (没有成纤维细胞生长因子的维持) 被终止。胚胎期的肢发育结束 (**图 19.24F**)。

19.6.4 同源异形基因对指的特化

如本章前面所述，同源异形基因沿肢的每个轴对命运特化有至关重要的作用，它们的表达，尤其是 *Hoxd* 基因簇，在两个阶段发挥作用 (Zakany et al. 2004；Tarchini and Duboule 2006；Abbasi 2011)。第一阶段对肢柱和肢杆的特化很重要，如前所述 (**图 19.25**)。第二阶段的 *Hoxd* 表达帮助特化肢梢。有两个主要的“早期”顺式调控区参与这些过程，这些调控区由很多增强子组成，它们以特定的时空顺序共同激活 *Hoxd* 基因。主要的早期调控区，或早期肢控制调节 (ELCR) 区，以时间依赖的方式激活转录：越靠近

这个区域的基因就会越早地被激活。第二个早期调节区，即“后部限制”（“POST”），对 5′ 端 *Hoxd* 基因（*Hoxd10* ～ *13*）的表达施加空间限制，以至于从肢芽的后缘开始，最靠近这个区域的基因呈现出最局限的表达区域（见图 19.25A，B）。这种状态建立了 Hoxd 蛋白的嵌套图式，对激活 *Sonic hedgehog* 基因的长距离增强子（极性活性区调控序列增强子）至关重要，这样就在肢芽后部的中胚层中激活 *Shh* 的表达并形成极性活性区（Tarchini et al. 2006；Galli et al. 2010）。另外，间充质中 Hoxb8 的存在似乎能帮助确定前肢芽的后部边界（见图 19.25B）。如果将 *Hoxb8* 异位表达在小鼠前肢芽的前部区域，那么在这里也会形成一个极性活性区（Charite et al. 1994；Hornstein et al. 2005）。

极性活性区进而能够改变 *Hoxd* 基因的表达图式。在后缘表达的 Sonic hedgehog 激活第二组增强子，称为整体控制区（见图 19.25C，D；Spitz et al. 2003；Montavon et al. 2011）。最接近整体控制区的同源异形基因表达得最为广泛。这种表达反转了 *Hoxd10* ～ *13* 表达的初始图式，以至于 *Hoxd13* 的表达水平最高并延伸到最前端。*Hoxd12*、*Hoxd11* 和 *Hoxd10* 在稍窄的一些区域表达，这样，最前端的指（即拇指）表达 *Hoxd13* 而不表达其他同源异形基因（见图 19.25B，最后一个示意图；Montavon et al. 2008）。因此，*Hoxd* 基因表达的第一阶段帮助特化极性活性区，而在 *Hoxd* 表达的第二阶段，极性活性区指令一些表达图式，这些图式确定了指的特征。此外，将极性活性区或其他分泌 Shh 的细胞移植到这一时期的肢芽前端边缘时能导致 *Hoxd* 基因表达的镜像图式，并产生镜像的指（Izpisúa-Belmonte et al. 1991；Nohno et al. 1991；Riddle et al. 1993）。

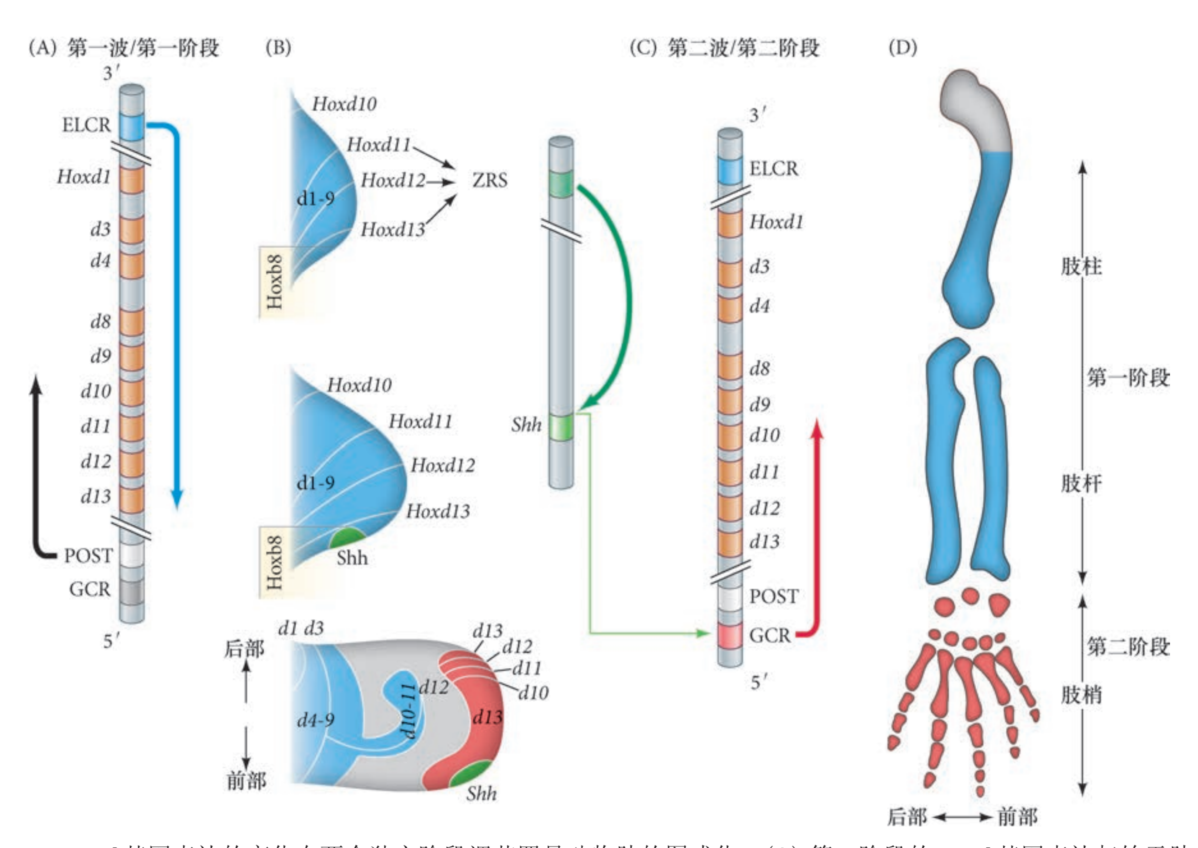


图 19.25 *Hoxd* 基因表达的变化在两个独立阶段调节四足动物肢的图式化。（A）第一阶段的 *Hoxd* 基因表达起始于肢芽形成的时期。早期肢控制调节（ELCR）元件更早地激活离它最近的那些基因，对远离它的那些基因的激活较晚，而后部限制（POST）调控元件具有负调控作用，在相反方向限制这些基因的前端表达。（B）这样就产生一些表达区域，使得 *Hoxd13* 被限制在最后端的区域，而 *Hoxd12* 能向更前端扩张。5′ 端的 *Hoxd* 基因激活 *Shh* 的长距离增强子（ZRS），因此在肢中胚层的后部建立极性活性区。（C）在第二阶段，Shh 激活整体控制区（GCR）的调节性基因座，这使 *Hoxd* 基因的表达图式反转，以至于 *Hoxd13* 的表达比其他同源异形基因更位于前部（B，下方的红色）。（D）早期（蓝色）和晚期（红色）阶段特化的骨骼成分。肢芽上的白色线显示基因表达的边界（参考 Abbasi 2011）。

这些同源异形域蛋白调控哪些基因？一些线索来自 *Hox13* 系列基因的突变分析。如上所述，携带 *HOXD13* 基因突变的人有一部分肢梢融合而不是分开。异位表达鸡的 *Hoxa13* 基因（通常表达在发育过程中鸡的肢远端）似乎使得表达它的细胞变得“更具黏性”，同时也使软骨和蹼之间的“波长”变小。这些特性可能会引起软骨结节以特定的方式致密（Yokouchi et al. 1995；Newman 1996；Sheth et al. 2012）。

19.6.5　自我组织的指骨骼发生的图灵模型

我们已经讨论了 Shh 和 Gli3 沿前 - 后轴对调节指图式化的重要性。但是，我们没有提及 *Shh* 和 *Gli3* 的单一和双无效突变体仍能形成指；事实上，这些突变体形成了许多指，即多指（或趾）畸形的肢表型（见 Litingtung et al. 2002；te Welscher et al. 2002）。这些数据暗示，或者其他一些指令性体系产生了指，或者指的形成是基于骨骼发生的一个内在分子预图式。小鼠爪上五个趾从前到后呈条带状的图式很像图灵型的图式化（见图 19.18）。如果图灵型机制能使远端间充质在软骨发生过程中自组织，那么代表这个图式产生体系的激活和抑制节点的核心因子是什么？

在认识到远端同源异形基因对指特征调控网络有关键作用以及它们与 Shh/Gli3 的调节性互作之后，Sheth 及其同事（2012）假设，*Hoxa13/Hoxd11* ～ *13* 基因通过图灵机制来调节指的数目。在理论上增加指的数目的一种方式是使已经被图式化的软骨发生的波长变窄；也就是说，可以将远端间充质分割成更小的前软骨发育条带。引人注目的是，Sheth 及其同事证明，远端同源异形基因的逐渐缺失配以类似的 *Gli3* 剂量降低与指数目的逐渐增加相关（**图 19.26**）。在 Ros、Sharpe 和 Kmita 三个实验室之间的这个合作研究将假设的泛激活物和泛抑制物形态发生素用于“反应 - 扩散”模拟。这个模拟显示，远端同源异形基因与来自外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子梯度的结合是图灵体系波长的充分调节器，可以在正常小鼠中和 *Gli3* 无效突变体背景下再现指的骨生成图式（Sheth et al. 2012）。

这个图灵模型预测，远端肢芽轻微的大小变化将改变指的数目。事实确是如此，这可能是进化过程中增加或减少指的一个简单途径[5]。事实上，对 *Hox/Gli3* 复合突变体中的多指（或多趾）与早期四足动物的肢、肉鳍鱼和辐鳍鱼的鳍之间的比较有力地说明，指的骨骼发生可能有一种保守和自我组织的反应 - 扩散机制。

建立在这个图灵模型基础上的假设预测，形态发生素激活物和抑制物在软骨发生时应该存在于肢末端的间充质。然而，目前还不清楚是哪些形态发生素。你如何鉴定这个体系中的激活物和抑制物？

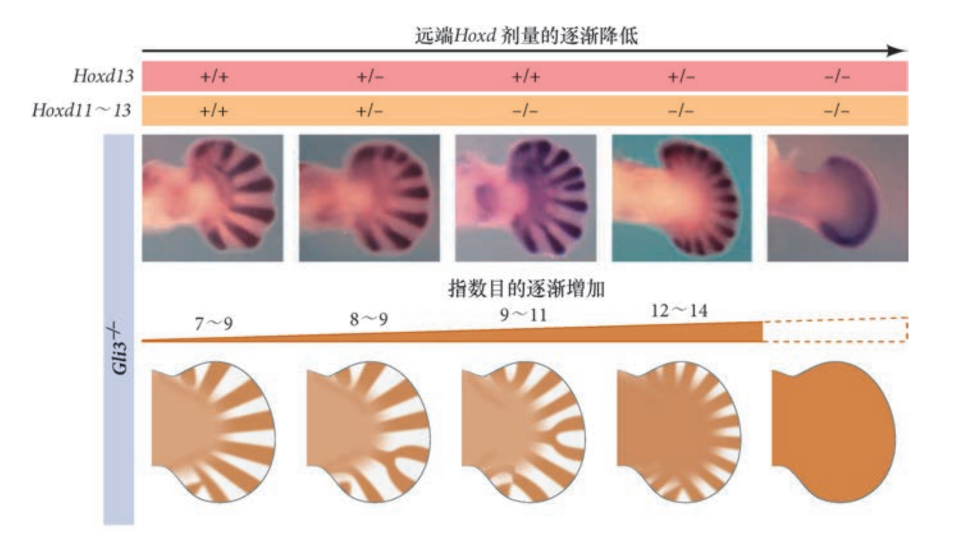


图 19.26　Gli3 和远端同源异形基因的表达。*Gli3* 的缺失（$Gli3^{-/-}$）与远端同源异形基因的逐渐减少相结合导致指数目的随之增加。额外指的图式遵循图灵型的形成机制。模拟结果（底排）与小鼠前肢 *Sox9* 的表达图式（照片）相一致（来自 Sheth et al. 2012）。

[5] 因此，具有较大肢芽的犬可以产生足够的细胞，使一个额外的软骨致密能被纳入肢梢（Alberch 1985）。圣伯纳犬和大白熊犬品种似乎就是这种情况。Fondon 和 Garner（2004）证明，*Alx-4* 基因的一个突变等位基因仅在大白熊犬中是纯合状态。这些犬具有多趾的特征（一个额外的脚趾，即悬爪）。在这种情况下，肢芽显然有更多的生长，使得肢梢能够出现另一个软骨致密。

Sharpe 实验室首先通过描述远端肢中早期前软骨形成的时空图式来回答这些问题，他们观察了前软骨标记物 Sox9 的表达图式。与此同时，Raspopovic 及其同事对表达和不表达 Sox9 的肢间充质细胞转录组进行了比较，他们发现一些发育基因在两个群体的细胞中差异性地表达。也就是说，Wnt 和骨形态发生蛋白相关基因仅在不表达 Sox9 的细胞中高度上调，即“不同步”表达（图 19.27A）。另外，已知 *Sox9* 基因的缺失使 Wnt 和骨形态发生蛋白在肢中失去周期性的表达图式（Akiyama et al. 2002），这提示 Sox9 不仅是前软骨的一个标记物基因，而且也可能是基因调控网络的一个直接成分。基于这些结果，Raspopovic 建立了一个“三节点”（BMP-Sox9-Wnt，BSW）图灵型网络来模拟小鼠中趾的骨骼发生，其中骨形态发生蛋白作为 Sox9 的激活物而 Wnt 则作为抑制物起作用（图 19.27B）。有趣的是，只有引入调节成纤维细胞生长因子梯度的参数的波长来确定近 - 远端生长的时间和远端同源异形基因的空间限制，BMP-Sox9-Wnt 图灵模型才能准确地模拟指发育的自组织特性（图 19.27C）。

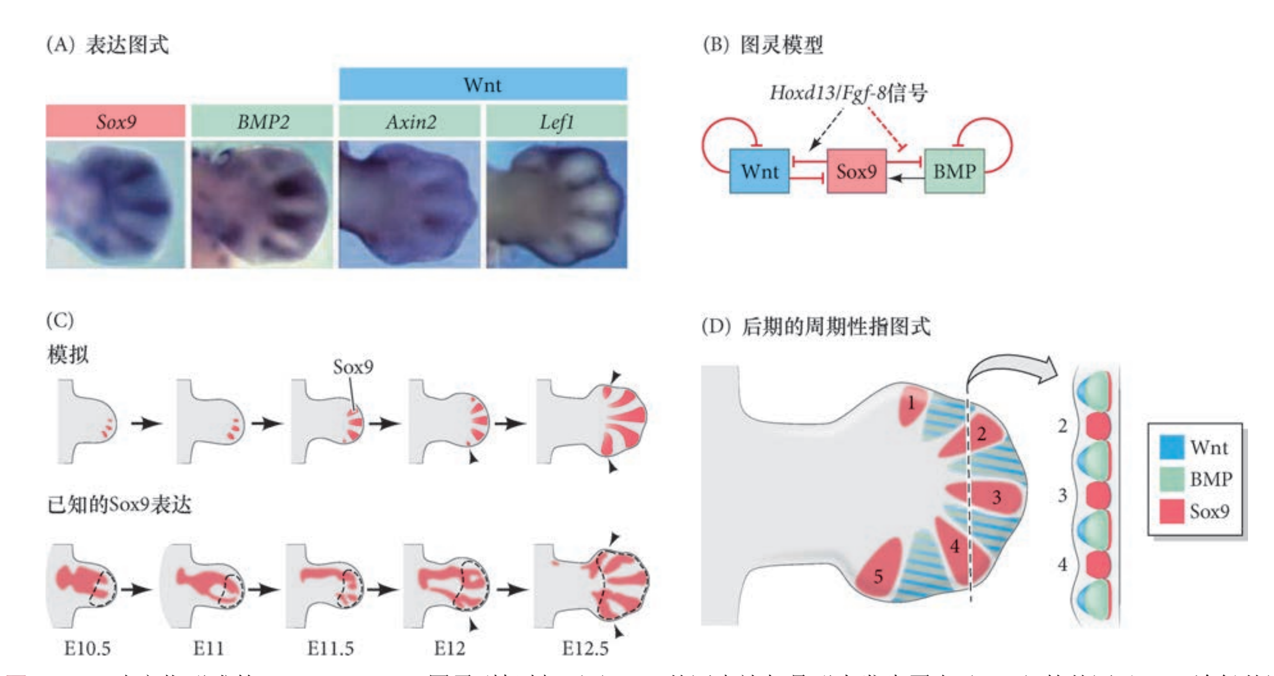


图 19.27 决定指形成的 BMP-Sox9-Wnt 图灵型机制。(A) *Sox9* 基因表达与骨形态发生蛋白（BMP）的基因及 Wnt 途径基因 *Axin2* 和 *Lef1* 的表达呈交替的条带。(B) 通过 BMP/Wnt 和 Sox9 相互作用，配以 *Hoxd13* 和成纤维细胞生长因子 -8（Fgf8）的远端表达的图灵机制，可以正确模拟正常的肢生长和指形成。(C) 依据这个模型的肢发育计算机模拟（上排）与内源 *Sox9* 基因表达图式的原位杂交结果（下排）显著一致。(D) 肢芽中 BMP-Sox9-Wnt 的表达示意图，显示这些基因之间沿前 - 后轴的定量差异（A ～ C 图来自 Raspopovic et al. 2014；D 图参考 Zuniga and Zeller 2014）。

观察发育 19.2 “图灵”间充质进入指。关于 BMP-Sox9-Wnt 模型如何构建指图式的计算机模拟。

综上所述，指形成的软骨发生图式似乎受分子互作的自组织性图灵体系所控制（图 19.27D）。骨形态发生蛋白和 Wnt 形态发生素差异性地调节 *Sox9* 的表达，这种调节受成纤维细胞生长因子和远端同源异形基因的调谐控制。最后，Sonic hedgehog 形态发生素提供远端间充质的早期极化，这个间充质沿前 - 后轴影响指特征的特化。

19.7 产生背－腹轴

肢的第三个轴将肢的背半部（指关节、指甲、爪）与腹半部（足垫、掌）区分开来。1974 年，

MacCabe 及其同事证明，肢芽的背 - 腹极性受包裹它的外胚层所决定。如果将外胚层相对于肢芽间充质旋转 180°，背 - 腹轴就会发生部分逆转，也就是说，远端成分（指）被“颠倒”，这说明肢背 - 腹轴的后期特化受它的外胚层成分所调控。

在背 - 腹轴极性特化中特别重要的一个分子似乎是 **Wnt7a**。这个基因表达在鸡和小鼠肢芽外胚层的背侧，而不是腹侧（**图 19.28A**；Dealy et al. 1993；Parr et al. 1993）。Parr 和 McMahon（1995）将 *Wnt7a* 基因敲除后，这样产生的小鼠胚胎在爪的两个表面都具有腹侧足垫，说明 Wnt7a 对肢的背部图式化是必需的。

Wnt7a 是首个已知的背 - 腹轴基因，在肢的发育过程中表达。它诱导 *Lmx1b*（也称为 *Lim1*）基因在背部间充质的激活。*Lmx1b* 编码一个转录因子，似乎在肢中对特化背部细胞命运是必需的。如果 Lmx1b 蛋白表达在腹部间充质细胞，这些细胞就会发育成背部的表型（Riddle et al. 1995；Vogel et al. 1995；Altabef and Tickle 2002）。人和小鼠的 *lmx1b* 突变体也显示出这个基因对特化肢背部命运的重要性。在小鼠中敲除 *Lmx1b* 产生一种综合征，其中肢的背部表型缺失，那些细胞向腹部命运发育，显示出足垫、腹部腱和籽骨（都是腹部特异结构；**图 19.28B，C**）。在人类中的情况也相同，*LMX1B* 基因的功能缺失突变导致指甲髌骨综合征（指 / 趾上无指 / 趾甲、无膝盖），其中肢的背部被腹部化（Chen et al. 1998；Dreyer et al. 1998）。Lim1 蛋白很可能特化细胞，使它们以背部的方式分化，如我们在第 15 章所述，这对运动神经元（其生长锥识别肢芽背腹区室差异性产生的抑制因子）的神经支配至关重要。反之，转录因子 Engrailed-1 标记肢芽的腹侧外胚层，并被下部中胚层的骨形态发生蛋白所诱导（**图 19.29**）。如果在早期肢芽中敲除骨形态发生蛋白，Engrailed-1 便不能表达，而 Wnt7a 则表达在背侧和腹侧外胚层。这样就导致了两侧都是背部的畸形肢（Ahn et al. 2001；Pizette et al. 2001）。

背 - 腹轴也与其他两个轴相协调。的确，前面描述的 *Wnt7a* 缺失型小鼠不仅缺少肢的背部结构，也

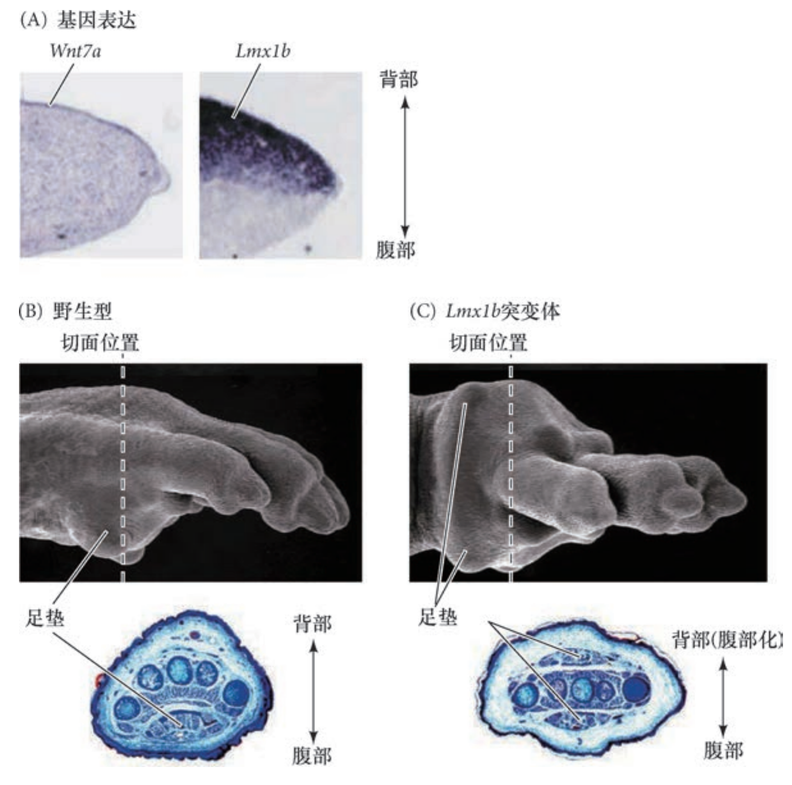


图 19.28　Wnt7a 调节的背 - 腹图式化依赖于 Lmx1b。(A) *Wnt7a* 和 *Lmx1b* 都在背侧肢芽中表达。*Wnt7a* 只表达在表皮，而 *Lmx1b* 在整个背部间充质中表达。(B，C) *Lmx1b* 的缺失使前肢腹部化，如突变体中爪的两面都有足垫（由 Randy Johnson 和 Kenneth Dunner 提供）。

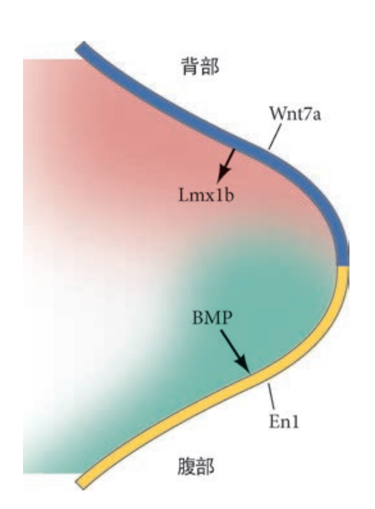


图 19.29　Wnt 和骨形态发生蛋白（BMP）信号在肢芽中参与背 - 腹图式化的模型。Wnt7a 通过 Lmx1b 诱导肢芽的背部细胞命运，而骨形态发生蛋白信号途径通过 Engrailed-1（En1）调节肢腹部的图式化。

缺少后端趾，说明 Wnt7a 对前 - 后轴也是必需的（Parr and McMahon 1995）。Yang 和 Niswander（1995）在鸡胚胎中观察到类似的情况。这些研究人员从发育的肢中去除背侧外胚层后，发现肢缺失后部骨骼成分。这些肢缺失了后端趾的原因是 *Shh* 的表达显著降低。病毒介导的 *Wnt7a* 表达能够替代背侧外胚层信号，并恢复 *Shh* 的表达和后部表型。这些发现显示，Sonic hedgehog 的合成受成纤维细胞生长因子 -4 和 Wnt7a 蛋白之间组合的刺激。反之，腹侧外胚层中过度活跃的 Wnt 信号导致外胚层顶嵴的过度生长和额外的指，表明近 - 远端的图式化也并非独立于背 - 腹图式化（Loomis et al. 1998；Adamska et al. 2004）。

因此，在肢的图式化完成后，骨形态发生蛋白同步关闭外胚层顶嵴、间接关闭极性活性区，并沿背 - 腹轴抑制 Wnt7a 信号（Pizette et al. 2001）。骨形态发生蛋白信号沿所有三个轴终止生长和图式化。如果将外源骨形态发生蛋白添加到外胚层顶嵴，伸长的外胚层顶嵴上皮将恢复成一个柱状表皮，并停止表达成纤维细胞生长因子；如果骨形态发生蛋白被头蛋白抑制，外胚层顶嵴在应该正常退化后仍然能持续几天（Gañan et al. 1998；Pizette and Niswander 1999）。

19.8　细胞死亡与指和关节的形成

细胞凋亡（**apoptosis**），即程序性细胞死亡，在塑造四足动物的肢中起作用。的确，如果我们的关节要形成、手指要分开，细胞死亡是必不可少的（Zaleske 1985；Zuzarte-Luis and Hurle 2005）。脊椎动物肢中特定细胞的死亡（或者不死亡）受遗传编程，并且在进化过程中受到选择。

19.8.1　雕塑肢梢

鸡的足与鸭的蹼足之间的区别在于趾之间有或没有细胞死亡（图 19.30）。Saunders 及其同事证明，在一定时期之后，趾软骨之间的鸡细胞注定要死亡，即使这些细胞被移植到胚胎的另一个区域或在体外进行培养，它们也会死亡（Saunders et al. 1962；Saunders and Fallon 1966）。但在死亡之前移植到鸭的肢中就能把它们拯救回来。在细胞的死亡被决定和死亡实际发生这段时间，细胞中 DNA、RNA 和蛋白质合成的水平急剧降低（Pollak and Fallon 1976）。

除了**指（趾）间坏死区**（**interdigital necrotic zone**）之外，还有其他三个肢的区域通过细胞死亡来塑形。尺骨和桡骨通过一个**内部坏死区**（**interior necrotic zone**）而彼此分离；另外两个区域，即**前端坏死区**（**anterior necrotic zone**）和**后端坏死区**（**posterior necrotic zone**），进一步塑形肢的末端（见图 19.30B；Saunders and Fallon 1966）。尽管这些区域被称为“坏死”区，但这个术语是从坏死性（病理性或创伤性）细胞死亡和凋亡性细胞死亡之间没有被予以区别的时期延用下来的。这些细胞通过细胞凋亡而死亡，而且指（趾）间组织的死亡与 DNA 的片段化相关（Mori et al. 1995）。

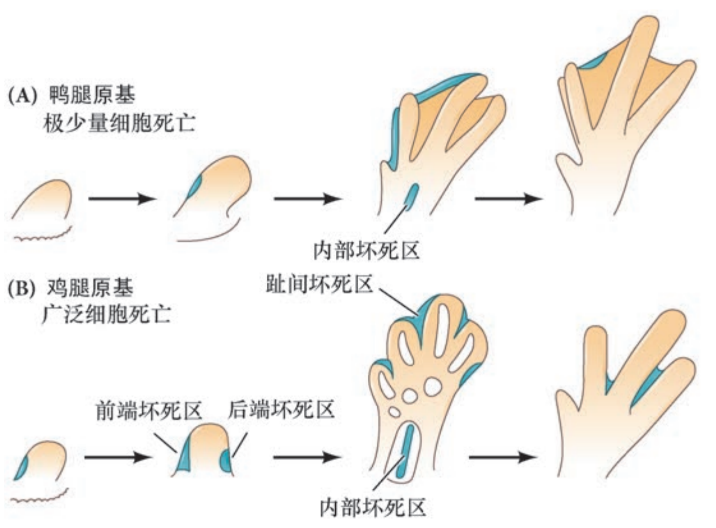


图 19.30　鸭（A）和鸡（B）胚胎中腿原基细胞死亡的图式。蓝色阴影表示细胞死亡的区域。在鸭中，细胞死亡的区域非常小，而在鸡腿的趾间组织中有广泛的细胞死亡区域（参考 Saunders and Fallon 1966）。

肢梢中细胞凋亡的信号来自骨形态发生蛋白，有趣的是，它们的表达依赖于指（趾）间视黄酸合成的上调（Cunningham and Duester 2015）。骨形态发生蛋白 -2、骨形态发生蛋白 -4 和骨形态发生蛋白 -7 都表达在指（趾）间的间充质，阻断骨形态发生蛋白信号（用携带显性失活的骨形态发生蛋

白受体的反转录病毒感染渐进带细胞）能阻止指（趾）间凋亡（Yokouchi et al. 1996；Zou and Niswander 1996；Abara-Buis et al. 2011）。 因为这些骨形态发生蛋白表达在整个渐进带间充质，细胞死亡被认为是默认状态，除非对骨形态发生蛋白进行主动抑制。这种抑制可能来自头蛋白，它表达在发育的指（趾）软骨及其周围的软骨膜细胞（Capdevila and Johnson 1998；Merino et al. 1998）。如果头蛋白被表达在整个肢芽，这样就不会发生凋亡。

19.8.2　形成关节

最初对骨形态发生蛋白功能的认识是它们参与骨和软骨组织的形成，而不是破坏。在发育的肢中，根据发育的时期不同，骨形态发生蛋白诱导间充质细胞或者经历细胞凋亡，或者变成产生软骨的软骨细胞。相同的骨形态发生蛋白能诱导细胞死亡或分化，取决于应答细胞的经历。这种信号作用的**环境依赖性**（**context dependency**）是发育生物学中的关键概念。这对于关节的形成也至关重要。Macias 及其同事（1997）证明，在肢芽早期（软骨致密之前），分泌骨形态发生蛋白 -2 或骨形态发生蛋白 -7 的珠子能引起细胞凋亡。两天后，同样的珠子则使肢芽细胞形成软骨。

在正常发育的肢中，骨形态发生蛋白使用这两种特性来形成关节。致密过程中的软骨细胞周围的软骨膜细胞产生多种骨形态发生蛋白，它们促使进一步的软骨形成[6]（**图 19.31A**）。另一种骨形态发生蛋白——生长分化因子 -5，表达在将要形成关节的骨间区域，似乎对关节的形成至关重要（**图 19.31B**；Macias et al. 1997；Brunet et al. 1998）。生长分化因子 -5 的基因在小鼠中发生突变时产生短足症，是一种以肢关节缺失为特征的状态（Storm and Kingsley 1999）。在头蛋白（骨形态发生蛋白的拮抗剂）功能缺失的纯合体小鼠中没有关节的形成。相反，骨形态发生蛋白 -7 在这些头蛋白缺陷的胚胎中似乎能将几乎所有的周围间充质募集到趾中（**图 19.31C**）。

血管和 Wnt 蛋白似乎也对关节的形成有关键作用。间充质细胞转变为形成软骨组织的结节建立了骨

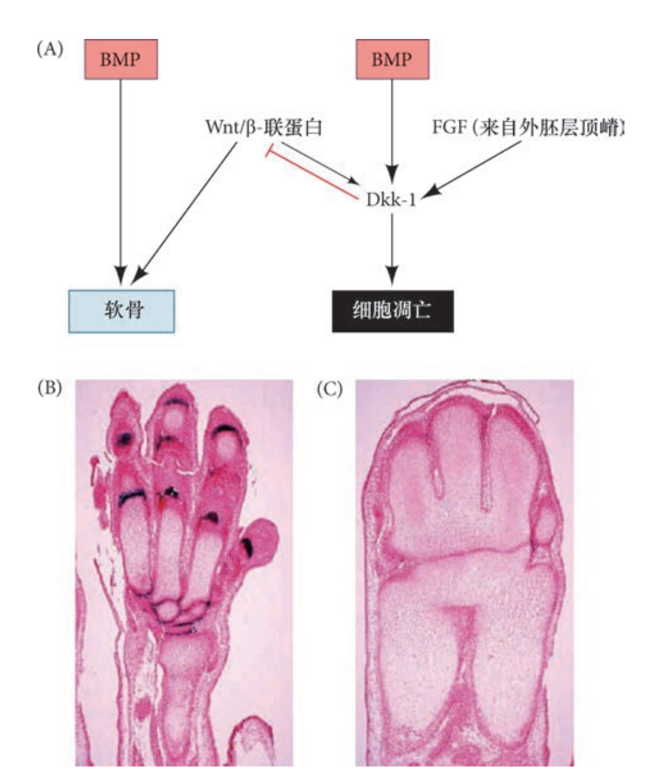


图 19.31　骨形态发生蛋白（BMP）对稳定软骨和细胞凋亡的可能作用。(A) 骨形态发生蛋白信号对肢中胚层细胞的双重作用模型。骨形态发生蛋白在有成纤维细胞生长因子（产生细胞凋亡）或 Wnt（诱导骨）的情况下能被细胞接收。在来自外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子（FGF）存在的情况下，Dickkopf（Dkk）被激活。这个蛋白质介导细胞凋亡，同时抑制 Wnt 对骨骼形成的促进作用。(B，C) 头蛋白的作用。(B) 第 16.5 天的野生型小鼠的肢梢，显示生长分化因子 -5 在关节的表达（深蓝色）。(C) 第 16.5 天的头蛋白缺失突变体小鼠的肢梢，显示既无关节也无生长分化因子 -5 的表达。有可能是在没有头蛋白的情况下，骨形态发生蛋白 -7 能将几乎所有的间充质转变成软骨（A 图来自 Grotewold and Rüther 2002；B 图和 C 图来自 Brunet et al. 1998，由 A. P. McMahon 提供）。

[6] 在蝙蝠中，骨形态发生蛋白的合成量非常高，这使更多的间充质细胞被招募到软骨，从而将其指比其他大多数哺乳动物延伸得更长（Cooper et al. 2012）。

骼的边界。在有血管的情况下，间充质将不会形成这样的结节，软骨形成的最初标志之一是在结节将要形成的区域中血管的退化（Yin and Pacifici 2001）。Wnt 蛋白对维持生长分化因子 -5 的转录至关重要，Wnt 激活的 β- 联蛋白能抑制标志前软骨细胞的 Sox9 和胶原蛋白 -2 的基因（Hartmann and Tabin 2001；Tufan and Tuan 2001）。

关节不只是没有骨。相反，关节是一些复杂的结构，整合了一个润滑系统、一个免疫系统和一个韧带系统，所有这些因素结合在一起，形成了正确的骨骼关节。容许这种分化的关节形成的一个关键因素是肌肉收缩。在关节的正常形成中，将要形成关节的细胞失去它们的软骨细胞特征（如胶原蛋白 -2 和 Sox9 的表达），反而开始表达生长分化因子 -5、Wnt4、Wnt9a 和 Ext1（一个合成硫酸乙酰肝素所必需的蛋白）。这些细胞将形成关节软骨和分泌润滑性滑液的滑膜（Koyama et al. 2008；Mundy et al. 2011）。Kahn 及其同事（2009）证明，骨的运动对于维持关节形成的命运定型是必要的。在肌肉不能形成或瘫痪的突变体小鼠中，关节细胞恢复到软骨性表型。

19.8.3 持续的肢生长：骺板

人类肢的三个轴以高度不对称的方式受到特化。但是，在接下来的 16 年里它们的生长是如此对称，以至于一个手臂的长度以少于 0.2% 的差别与另一个相匹配（Ballock and O’Keefe 2003；Wolpert 2010）。如果我们所有的软骨在出生之前都变成骨骼，我们就不会再长大，我们的骨骼也只能和原来的软骨模型一样大。但是生长区，也就是**骺板**（**epiphyseal plate**），在每个发育的长骨的近端和远端形成。离新骨骼最远的骺板部分是软骨性干细胞的生发区，然后是增殖性的软骨细胞区、成熟软骨细胞和肥大软骨细胞。肥大软骨细胞（其大小能增加 5 ～ 10 倍）经历细胞凋亡并被骨细胞取代。

在很多哺乳动物（包括人类）的长骨中，软骨内成骨从骨的中央在两个方向上向外扩张（图 19.32）。尽管每天可以产生超过 10 000 个新的软骨细胞，但是每个臂中的数目似乎相同。人的软骨增殖一直到 3 岁左右都处在活跃状态。然而，差异性生长（人的臂与腿之间，或人的腿与犬的腿之间）的主要因素很可能是肥大软骨的膨胀。这些细胞不仅可以产生不同数量的软骨细胞，它们还能扩展到不

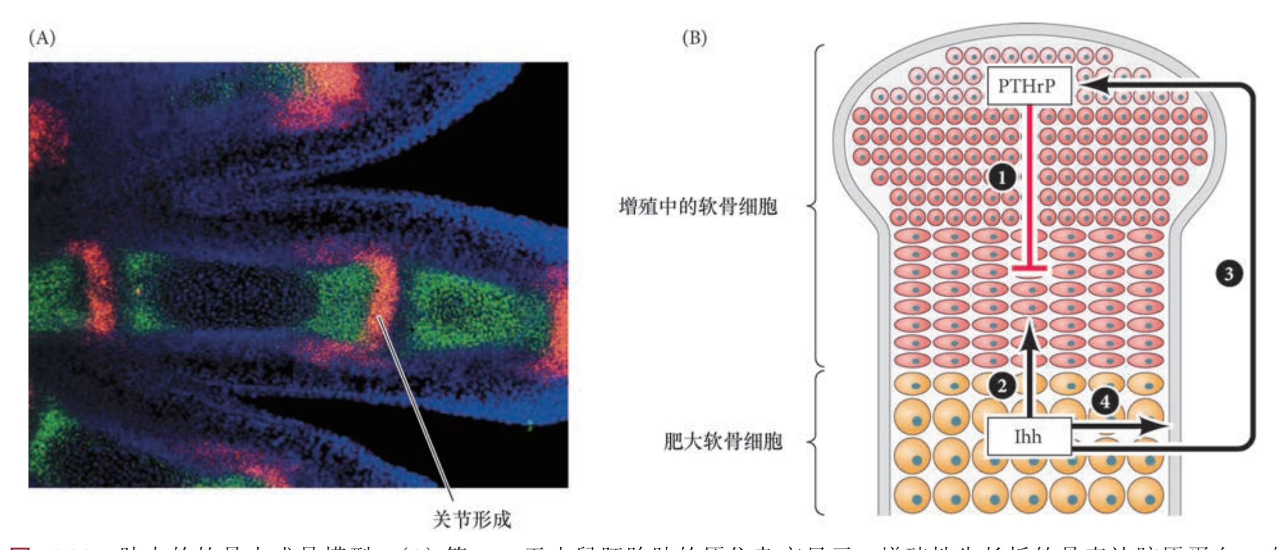


图 19.32 肢中的软骨内成骨模型。（A）第 21.5 天小鼠胚胎肢的原位杂交显示，增殖性生长板软骨表达胶原蛋白 -2 的 mRNA（绿色），以及注定变成一个关节的区域表达生长分化因子 -5 的 mRNA（红色）。细胞核被染成蓝色。（B）甲状旁腺激素相关蛋白（PTHrP）和 Indian hedgehog（Ihh）对软骨细胞增殖的调节。①甲状旁腺激素相关蛋白作用于增殖中的软骨细胞上的受体，维持这些细胞的分裂，从而延缓 Ihh 的产生。②当产生甲状旁腺激素相关蛋白的源头变得足够远时，Ihh 被合成；Ihh 作用于它的受体（表达在软骨细胞），以增加软骨细胞增殖的速度。③刺激骨末端甲状旁腺激素相关蛋白的合成。④ Ihh 也作用于包裹软骨的软骨膜细胞，将它们转变成骨领的成骨细胞（A 图由 P. Tylzanowski 提供；B 图来自 Kronenberg 2003）。

同的大小（Cooper et al. 2013）。在青春期的急剧生长后，骺生长板融合，不再有任何用于生长的干细胞。只要骺板能够产生软骨细胞，骨骼就会继续生长。

19.8.4　成纤维细胞生长因子受体：侏儒

生长速度似乎是每种骨的内在特征。每个生长板都受到局部控制（很可能是通过对生长因子敏感性的差异），但整个骨骼的协调生长受一些循环因子维持。因此，在老年和幼年哺乳动物的生长板之间进行移植时，移植的生长板的生长速度取决于供体动物的年龄，而不是宿主动物的年龄（Wolpert 2010）。然而，对于导致人类和小鼠骨骼发育异常的突变的发现为了解激素和旁分泌因子如何控制肢的最终大小提供了引人注目的认知。

成纤维细胞生长因子对于终止骺板生长和指令细胞分化而不是分裂具有极为重要的作用（Deng et al. 1996；Webster and Donoghue 1996）。在人类，成纤维细胞生长因子受体突变导致这些受体在接收正常的成纤维细胞生长因子信号之前就变得具有活性。这样的突变引起一些主要类型的人类侏儒。**软骨发育不全**（**achondroplasia**）是成纤维细胞生长因子受体 -3 跨膜区突变导致的一种显性状态。大约 95% 的软骨发育不全性侏儒都携带成纤维细胞生长因子受体 -3 基因的相同突变：一个碱基对的替换，使这个蛋白质的跨膜区的第 380 位甘氨酸转变成精氨酸。另外，成纤维细胞生长因子受体 -3 蛋白胞外部分的突变或胞内酪氨酸激酶结构域的突变也可能引起致死性发育异常，这是一种类似于纯合状态软骨发育不全的致死形式的侏儒（Bellus et al. 1995；Tavormina et al. 1995）。

如我们在第 1 章所述，达克斯犬（德国腊肠犬）携带一种软骨发育不全的突变，但其中的原因与人类的软骨发育不全稍微不同。达克斯犬多了一个拷贝的成纤维细胞生长因子 -4 基因，它在发育的肢中表达。这个额外的拷贝产生过量的成纤维细胞生长因子 -4，激活成纤维细胞生长因子受体 -3，并促进终止成软骨细胞生长及加速它们分化的途径。相同的成纤维细胞生长因子 -4 额外拷贝也见于其他短肢犬，如威尔士矮脚犬和巴吉度猎犬（Parker et al. 2009）。

网络话题 19.2　**生长激素和雌激素受体**　顾名思义，生长激素是生长调节的一个主要因子，包括肢的生长。它与生殖腺类固醇（特别是雌激素）的相互作用对骨的生长似乎非常重要。

19.9　改变肢信号中心而发生的进化

查理 • 达尔文在《物种起源》中写道："为抓握而生的一个人的手、为掘洞而生的鼹鼠的手、马腿、海豚鳍、蝙蝠翼应该都是以相同的图式构建的，应该包含类似的骨骼，并且处在同样的相对位置，有什么会比这些更使人好奇？"达尔文意识到，马腿、海豚鳍和人手之间的区别受类似的骨形成图式所决定。他认为这些骨骼演化自一个共同祖先，尽管他并不知道那是怎样发生的。C. H. Waddington 指出，这种进化的前提是以能够被选择的方式来改变肢的发育。换言之，他认为发育的变化导致新变异的出现。这些变异随后可以被自然选择所检验。我们现在已经发现了几种"修补"一些肢信号分子而产生新的肢形态的方式。通过这些方式，发育的变化可以引起肢的进化[7]。

网络话题 19.3　**恐龙和鸡的指**　鸟起源于恐龙的一个证据是这两个种群都持有三个指。对一些研究人员来说，鸟似乎有第 2、3 和 4 指，而恐龙则有第 1、2 和 3 指。最近的证据显示基因转录的变化可能会解开这个谜团。

---

[7] 在本章的前面，我们提到过发育生物学家习惯在四个维度上思考问题。进化发育生物学家必须在五个维度上思考：标准的三维度空间、发育时间的维度（以小时或天计算）及进化时间的维度（以数百万年计算）。

科学家讲座 19.5 关于肢进化的三个网络会议。Peter Currie 博士讨论鱼类肢肌肉的进化、Michael Shapiro 博士描述棘鱼骨盆缩小的进化、James Noonan 博士讲述人类拇指的进化。

蹼足伙伴 我们可以从肢梢的雕刻说起。骨形态发生蛋白的调节对构建鸭的蹼状足至关重要（Laufer et al. 1997b；Merino et al. 1999）。鸭足的趾间区和鸡足的蹼具有相同的骨形态发生蛋白表达图式。但是，鸡足的趾间区似乎经历了骨形态发生蛋白介导的细胞凋亡，而发育中的鸭足合成了骨形态发生蛋白抑制物 Gremlin，从而阻断这种区域性的细胞死亡（图 19.33）。而且，将浸泡 Gremlin 的珠子置于鸡足的趾间区可以保留鸡足的蹼。因此，蹼足鸟类的进化很可能涉及趾间区骨形态发生蛋白介导的细胞凋亡的抑制。在第 26 章，我们将会看到蝙蝠胚胎使用一种类似的机制产生翼。



图 19.33 类似时期的鸡（上排）和鸭（下排）的肢梢。两者均显示骨形态发生蛋白 -4（深蓝色）在趾间蹼表达；骨形态发生蛋白 -4 诱导细胞凋亡。鸭足（而非鸡足）的趾间蹼表达骨形态发生蛋白 -4 的抑制性蛋白 Gremlin（深褐色；箭所示）。因此，鸡足经历趾间细胞凋亡（死亡细胞中可见中性红染料的积累），而鸭足却不经历凋亡。BMP：骨形态发生蛋白（由 J. Hurle 和 E. Laufer 提供）。

修补信号中心：产生鲸 大量的过渡化石证明现代鲸类（鲸鱼、海豚、鼠海豚）起源于陆生有蹄哺乳动物（Gingrich et al. 1994；Thewissen et al. 2007，2009）。虽然解剖学上发生了众多的变化，但很少有像前肢转变成鳍肢及后肢完全消失那样引人注目。这些事件是以三种方式修饰祖先鲸类肢芽的信号中心而实现的。第一，前肢外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子信号被保留了更长时间，这就通过持续性添加指骨而使手指变得更长。第二，指间细胞凋亡以类似于上述鸭足的方式通过阻断骨形态发生蛋白的活性而被阻止。第三，后肢极性活性区的 Sonic hedgehog 信号在发育早期被终止。一旦极性活性区信号减弱，外胚层顶嵴便不能维持，后肢便停止发育（Thewissen et al. 2006）。图 19.34 显示一个海豚胚胎中延长的鳍肢指骨和截短的后肢。因此，尽管神创论者宣称鲸鱼不可能从陆地哺乳动物演变而来（见 Gish 1985），事实上发育生物学和古生物学的结合却极好地解释了这一现象。

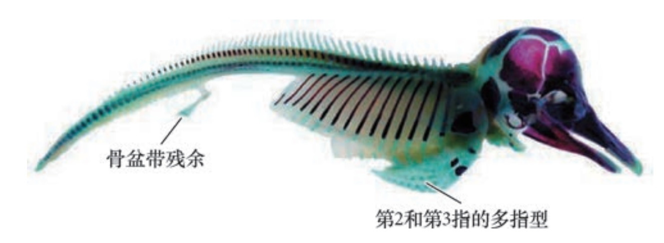
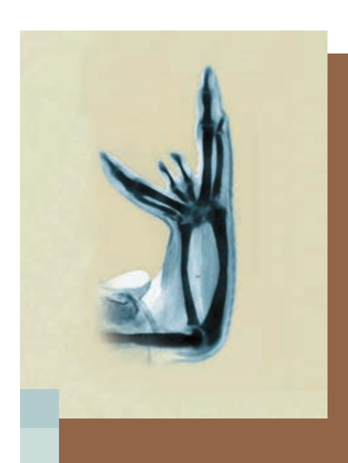


图 19.34 一个第 110 天的泛热带斑点海豚（*Stella attenuata*）胚胎，染色显示骨骼（红色）和软骨（蓝色）。多指型（极长的指）见于前肢（这与成纤维细胞生长因子 -8 在外胚层顶嵴的持续表达相关），还可见一个发育不全的后肢（这与极性活性区中 Shh 缺失后外胚层顶嵴信号的降低相关）（来自 Cooper 2009；由 L. N. Cooper 和 Thewissen 实验室提供）。

下一步的研究

所有主要家族的旁分泌因子协调作用以完成肢的构建。尽管很多肢芽形成的“执行因子”已经被鉴

定出来，我们才刚刚开始理解这些旁分泌因子的活性如何影响软骨致密将要形成的位置、骨骼成分如何被雕刻、每个指如何被特化，以及腱和肌肉将在什么位置插入骨骼成分。因此，肢的发育是发育生物学、进化生物学和医学的一个聚集地。在未来十年内，我们可能会发现很多关于先天性肢形成缺陷的基础，而且也许我们会更好地理解肢怎样被改变成鳍肢、翼、手和腿。也许你可以“伸出援助之手”。





开篇图的思考

对于这个图来说，更恰当的问题也许应该是“我举起了哪些手指”？这个鸡翅中的骨骼成分显示出指的镜像重复，我们现在知道这是由于肢芽前端 Sonic hedgehog 的错误表达而引起的。沿几个主要轴向的信号因子梯度在臂和手中对建立正确的结构数目和图式有必不可少的作用。对肢发育同样重要的是同源异形基因调节的基因调控网络，以及最终构建肢组织的细胞之间的自组织相互作用（参考 Honing and Summerbell 1985；照片由 D. Summerbell 提供）。

19 要点总结

四足动物肢的发育

1. 肢从体轴形成的位置取决于同源异形基因的表达。
2. 发育中肢的近 - 远轴起始于间充质分泌的成纤维细胞生长因子 -10 在背 - 腹边界处对外胚层的诱导。这种诱导形成外胚层顶嵴。外胚层顶嵴分泌成纤维细胞生长因子 -8，使下部的间充质保持增殖和未分化状态。这个间充质区域称为渐进带。
3. Tbx5 诱导前肢特征，而 Tbx4（鸡）和 lslet1（小鼠）诱导后肢特征。
4. 两个反向的梯度，一个来自外胚层顶嵴的纤维细胞生长因子和 Wnt，另一个是来自侧翼的视黄酸，图式化鸡肢的近 - 远轴。但在小鼠中，视黄酸似乎对近 - 远轴图式化不是必需的，说明小鼠中只有单一的成纤维细胞生长因子和 Wnt 梯度。
5. 肢在外向生长时首先形成肢柱，然后形成肢杆，最后形成肢梢。肢发育的每个阶段都以同源异形基因表达的特定图式为特征。肢梢的进化涉及区分鱼鳍和四足动物肢的同源异形基因表达的重复和逆转。
6. 图灵型模型说明一个反应 - 扩散机制能解释四足动物肢中肢柱 - 肢杆 - 肢梢的恒定图式。
7. 前 - 后轴受 Sonic hedgehog 在极性活性区的表达所确定，这是肢芽后部中胚层的一个区域。如果极性活性区组织（或分泌 Shh 的细胞或珠子）被置入到肢芽的前缘，第二个镜像图式的同源异形基因表达就会出现，同时出现相应的镜像重复的指。
8. 极性活性区通过外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子与间充质的相互作用来维持，间充质因为表达特定的同源异形基因而具备产生 Sonic hedgehog 的能力。Sonic hedgehog 很可能以一种间接的方式（也很可能通过 Gli 因子）反过来改变肢芽中同源异形基因的表达。
9. Sonic hedgehog 至少通过两种方式特化指的命运。它在指间的间充质抑制骨形态发生蛋白，它也调节指软骨的增殖。在 Shh 的长距离增强子上发生的突变能在肢芽前缘建立第二个活性极性区，导致多指（多趾）。

10. 背 - 腹轴的形成在一定程度上依赖于 Wnt7a 在肢外胚层背部的表达。Wnt7a 也在极性活性区维持 Sonic hedgehog 的表达，以及在外胚层顶嵴后部维持成纤维细胞生长因子 -4 的表达。这两个因子互相维持彼此的表达。

11. 外胚层顶嵴的成纤维细胞生长因子水平既能支持也能抑制极性活性区中 Shh 的产生。随着肢芽的生长和外胚层顶嵴产生更多的成纤维细胞生长因子，Shh 的表达受到抑制。这反过来引起成纤维细胞生长因子水平的降低，最终近 - 远端的外向生长停止。

12. 一个“三节点”BMP-Sox9-Wnt 图灵型网络是小鼠指骨骼发生的基础，以至于表达骨形态发生蛋白的细胞激活 Sox9，而 Wnt 是 Sox9 的抑制物。

13. 肢中的细胞死亡受骨形态发生蛋白介导，这对指和关节的形成是必需的。无蹼的鸡足和具蹼的鸭足之间的差异可以通过 Gremlin 表达的差异来解释，这是骨形态发生蛋白的一个拮抗剂。

14. 人类和其他哺乳动物的长骨末端含有一些软骨区域，称为骨骺生长板。这些区域的软骨增殖，使得骨长得更大。软骨最终被骨替代，生长随即停止。

15. 身体不同部位之间及不同物种之间骨生长的差异主要取决于肥大软骨（后来将被骨取代）的扩张。

16. 改变旁分泌因子的分泌能产生不同的肢形态，起始蹼足、鳍肢或手的发育。去除某些旁分泌因子的合成能阻止肢的形成（如鲸和蛇中的情况）。

17. 骨形态发生蛋白既参与诱导细胞凋亡，也参与间充质细胞向软骨的分化。头蛋白和 Gremlin 蛋白对骨形态发生蛋白作用的调节对于形成肢骨间的关节及调节近 - 远端的外向生长有关键作用。

拓展阅读

Cooper, K. L., J. K. Hu, D. ten Berge, M. Fernandez-Teran, M. A. Ros and C. J. Tabin. 2011. Initiation of proximal-distal patterning in the vertebrate limb by signals and growth. *Science* 332: 1083–1086.

Cunningham, T. J. and G. Duester. 2015. Mechanisms of retinoic acid signalling and its roles in organ and limb development. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 16: 110–123.

Freitas, R., C. Gómez-Marín, J. M. Wilson, F. Casares and J. L. Gómez-Skarmeta. 2012. *Hoxd13* contribution to the evolution of vertebrate appendages. *Dev. Cell* 23: 1219–1229.

Kawakami, Y. and 12 others. 2011. Islet1-mediated activation of the β-catenin pathway is necessary for hindlimb initiation in mice. *Development* 138: 4465–4473.

Mahmood, R. and 9 others. 1995. A role for Fgf8 in the initiation and maintenance of vertebrate limb outgrowth. *Curr. Biol.* 5: 797–806.

Merino, R., J. Rodriguez-Leon, D. Macias, Y. Gañan, A. N. Economides and J. M. Hurle. 1999. The BMP antagonist Gremlin regulates outgrowth, chondrogenesis, and programmed cell death in the developing limb. *Development* 126: 5515–5522.

Niswander, L., S. Jeffrey, G. R. Martin and C. Tickle. 1994. A positive feedback loop coordinates growth and patterning in the vertebrate limb. *Nature* 371: 609–612.

Raspopovic, J., L. Marcon, L. Russo and J. Sharpe. 2014. Digit patterning is controlled by a BMP-Sox9-Wnt Turing network modulated by morphogen gradients. *Science* 345: 566–570.

Riddle, R. D., R. L. Johnson, E. Laufer and C. Tabin. 1993. Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA. *Cell* 75: 1401–1416.

Roselló-Díez, A., C. G. Arques, I. Delgado, G. Giovinazzo and M. Torres. 2014. Diffusible signals and epigenetic timing cooperate in late proximo-distal limb patterning. *Development* 141: 1534-1543.

Schneider, I. and N. H. Shubin. 2013. The origin of the tetrapod limb: From expeditions to enhancers. *Trends Genet.* 29: 419–426.

Sekine, K. and 10 others. 1999. Fgf10 is essential for limb and lung formation. *Nature Genet.* 21: 138–141.

Todt, W. L. and J. F. Fallon. 1987. Posterior apical ectodermal ridge removal in the chick wing bud triggers a series of events resulting in defective anterior pattern formation. *Development* 101: 501–515.

Verheyden, J. M. and X. Sun. 2008. An FGF-Gremlin inhibitory feedback loop triggers termination of limb bud outgrowth. *Nature* 454: 638–641.

Zhang, Y. T., M. S. Alber and S. A. Newman. 2013. Mathematical modeling of vertebrate limb development. *Math. Biosci.* 243: 1–17.

Zuniga, A. 2015. Next generation limb development and evolution: Old questions, new perspectives. *Development* 142: 3810–3820.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

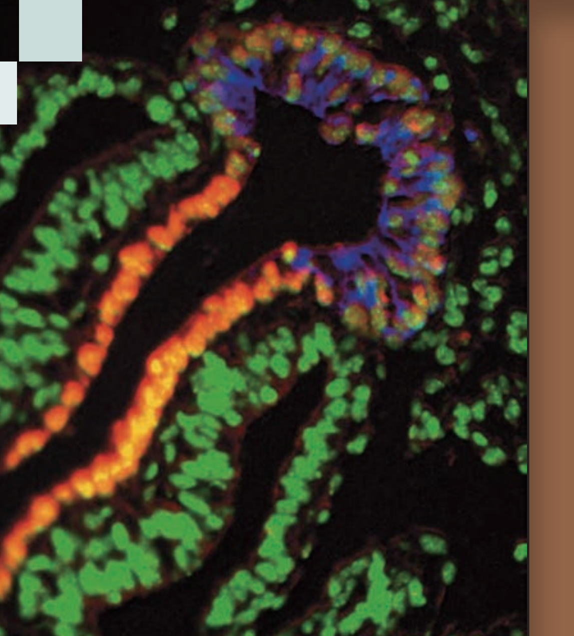
查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 20 章

内胚层

消化和呼吸的管道与器官

一些肠细胞如何变成胰腺细胞，而相邻的肠细胞却变成了肝或肠？



内胚层产生成体羊膜动物的肠管和呼吸管，这些位置对气体和食物交换至关重要。在胚胎期的羊膜动物（它们的食物和氧来自母体，通过胎盘运输），内胚层的第一个主要功能是诱导多个中胚层器官的形成。我们在前几章已经看到，内胚层对指令脊索、心脏、血管、甚至是中胚层的形成都有关键的作用。内胚层的第二个胚胎期功能是在脊椎动物体内构建两种管道的内衬。**消化管**（**digestive tube**）延伸到整个体长，来自消化管上的一些芽形成肝、胆囊和胰腺。**呼吸管**（**respiratory tube**）由消化管的外向生长形成，最终分叉形成两个肺。呼吸管分支点前端的消化管区域是**咽**（**pharynx**）。第三个胚胎期功能是形成多种腺体的上皮。咽的上皮性外囊产生扁桃体、甲状腺、胸腺和甲状旁腺。

内胚层产生自两个来源。一个主要的来源是在原肠胚形成过程中通过原条进入胚胎内部的一组细胞。这些细胞通常被称为**定型内胚层**（**definitive endoderm**），它们取代了主要形成卵黄囊的**脏壁内胚层**（**visceral endoderm**）。但是，并非所有的脏壁内胚层都被去除。

要点

内胚层由消化管、呼吸管及相关的腺体所组成。转录因子 Sox17 对内胚层的特化起主要作用。肠管沿前－后轴被确定。前部的细胞变成咽、肺和甲状腺；后部的细胞变成肠；它们之间的细胞变成胰腺、胆囊和肝的前体。脏壁中胚层对特化消化管不同区域的形态发生有重要作用，它分泌的 Sonic hedgehog 诱导同源异形基因的嵌套表达图式，这个图式转而区分与相邻内胚层相互作用的中胚层区域。胰腺的 β 细胞产生胰岛素，针对它们的发育途径的描绘已经使人们能从诱导多能干细胞产生合成胰岛素的 β 细胞。

利用荧光标记物进行活细胞成像的研究显示，定型内胚层不是以整片的方式取代脏壁内胚层（Kwon et al. 2008；Viotti et al. 2014a）。相反，单个的定型内胚层细胞能镶嵌入脏壁内胚层。这些上胚层细胞的后代维持在胚胎区，而大多数（不是所有的）初始脏壁内胚层变成胚外内胚层。转录因子 Sox17 能在很多物种中标记内胚层，而且，*Sox17* 基因似乎在一些细胞离开原条时被激活。缺失 *Sox17* 的突变体不能形成定型内胚层（Viotti et al. 2014b）。

Sox17 蛋白的表达使定型内胚层细胞有别于那些也通过原条迁移的中胚层细胞；中胚层细胞表达转录因子 Brachyury 的基因，而 Brachyury 似乎对中胚层的发育至关重要。*Sox17* 或 *Brachyury* 基因的表达似乎取决于脏壁内胚层分泌的 Nodal 浓度。高水平的 Nodal 诱导 *Sox17*，而骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子拮抗 Nodal 的作用，并将迁移中的细胞特化成中胚层（图 20.1；Vincent et al. 2003；Dunn et al. 2004）。

肠的定型内胚层然后被三个区域所确定，每个区域都具有特定的胚胎起源，并沿前 - 后轴被它们的位置所界定（Gordillo et al. 2015）。现在已经应该显而易见，脊椎动物的前 - 后轴受 Wnt、成纤维细胞生长因子和骨形态发生蛋白的梯度所特化，每个因子在后部的浓度最高（图 20.2）。接近头部的内胚层将形成前肠的前部细胞，它们将产生肺和甲状腺的前体。后部的内胚层产生一组中肠 - 后肠前体细胞，它们将形成肠的祖细胞。这些细胞之间的区域（骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子和 Wnt 中等浓度的区域）

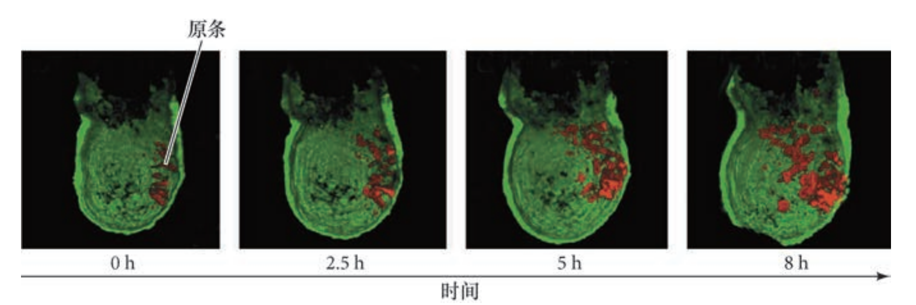


图 20.1 小鼠上胚层的定型内胚层细胞取代脏壁内胚层细胞。图中的胚胎脏壁内胚层被绿色荧光蛋白予以遗传标记，可以看到荧光包裹上胚层。上胚层细胞被红色染料随机标记，并在它们通过原条迁移和取代脏壁内胚层细胞的过程中被拍摄（来自 Viotti et al. 2014b，由 A. K. Hadjantonakis 提供）。

拓展性问题

肠管是不对称的。它向特定的方向旋转，将胃置于接近心脏的位置，阑尾置于右侧。哪些分子和细胞事件引起肠的环化？

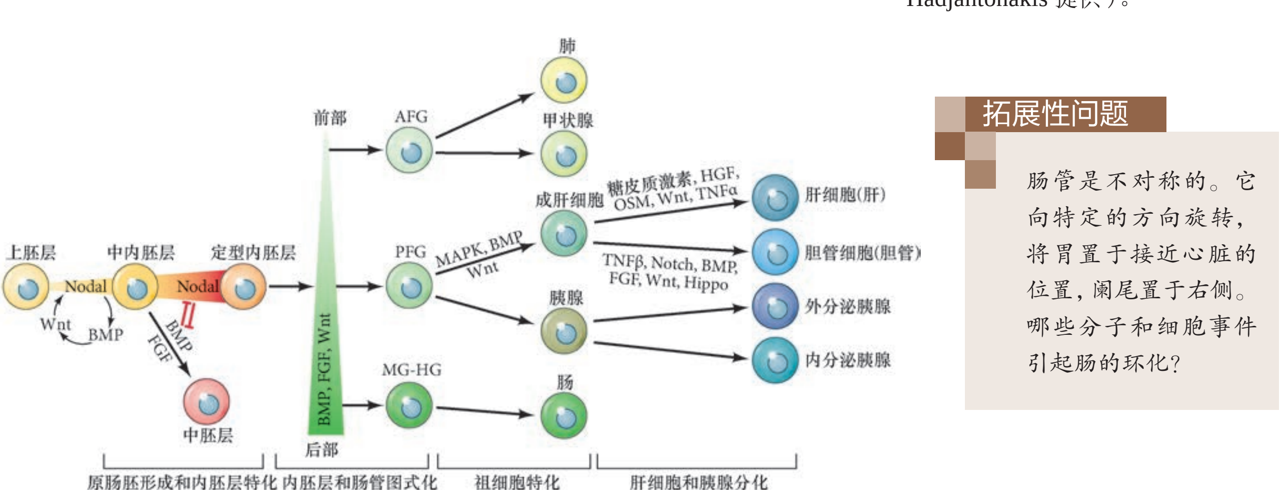


图 20.2 介导内胚层祖细胞命运的信号。Nodal 信号激活上胚层细胞向中内胚层命运发育并通过原条进行迁移。接触高浓度 Nodal 的细胞倾向变成定型内胚层细胞。接收骨形态发生蛋白（BMP）和成纤维细胞生长因子（FGF）的细胞倾向发育成中胚层。定型内胚层细胞的后期命运在很大程度上取决于细胞在前 - 后轴方向的位置。那些位于后部的细胞接触高浓度的 Wnt、骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子，将变成产生肠的中肠 - 后肠（MG-HG）细胞。那些接触稍低水平的这些旁分泌因子的细胞产生前肠的后部（PFG）细胞，它们是肝（肝细胞和胆管细胞）和胰腺（进一步分成外分泌和内分泌祖细胞）的前体。那些接触很低水平的这些旁分泌因子的定型内胚层细胞产生前肠的前部（AFG）细胞，它们形成肺和甲状腺的前体。为简化起见，很多谱系没有被列出。MAPK：促分裂原活化的蛋白质激酶；HGF：肝细胞生长因子；OSM：抑瘤素 -M；TNF-α：肿瘤坏死因子 -α；TNF-β：肿瘤坏死因子 -β（参考 Gordillo et al. 2015）。

变成前肠的后部前体，这些细胞产生胰腺和肝。

肠细胞最初在胚胎下部（在鸡或人类）或围绕胚胎（在小鼠）形成一个扁平层。这个扁平层的定型内胚层细胞形成一个管。哺乳动物肠管的发育起始于两个位置，这两部分彼此相对地迁移并在中央融合（Lawson et al. 1986；Franklin et al. 2008）。在前肠，前端内胚层外侧部分的细胞向腹部移动以形成**前肠门**（**anterior intestinal portal**，**AIP**）的管；**后肠门**（**caudal intestinal portal**，**CIP**）由后端内胚层形成。前肠门和后肠门彼此相对地迁移，汇聚在一起后形成中肠（**图 20.3**）。

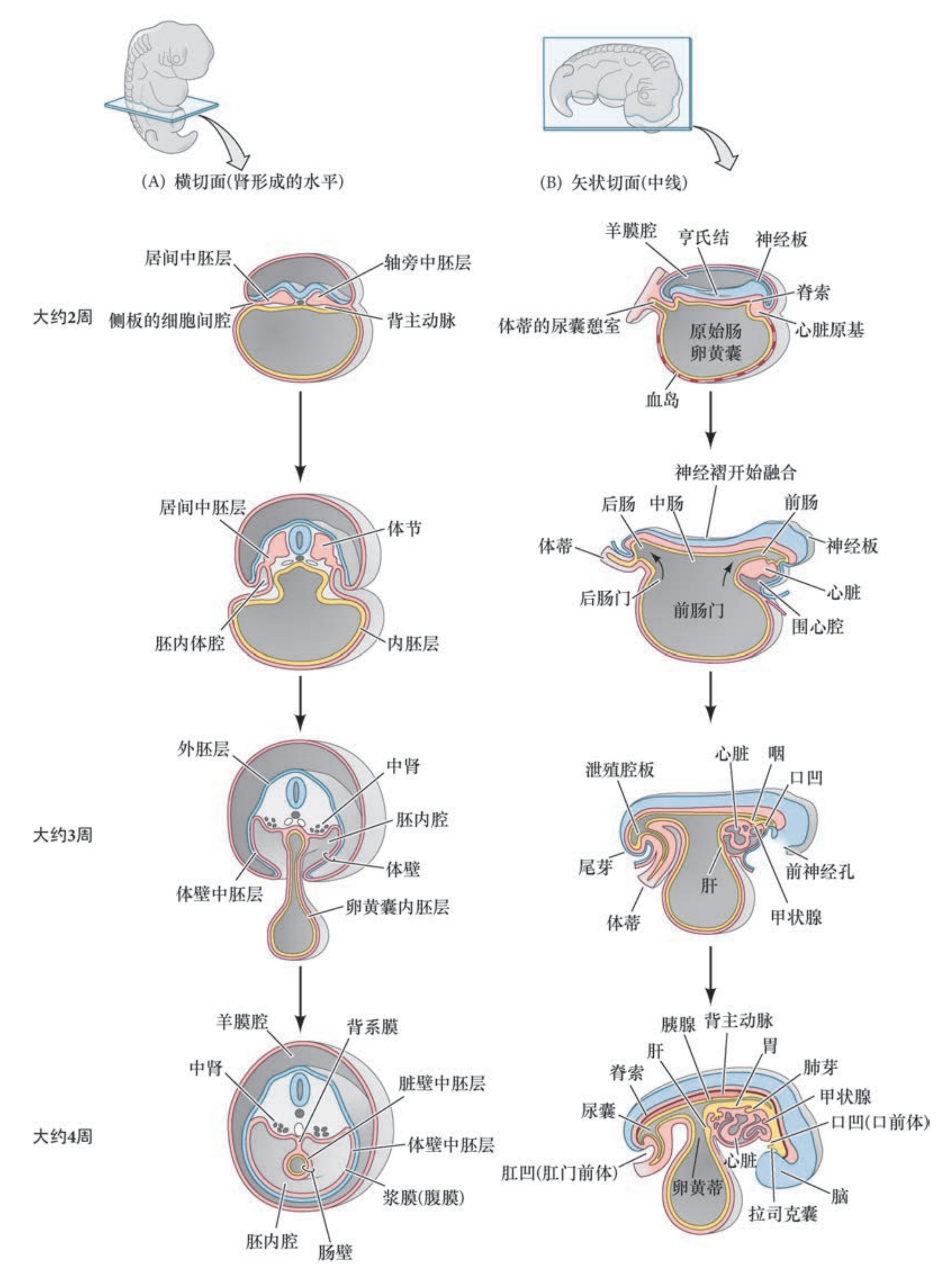


图 20.3　人早期发育期间内胚层的折叠。(A) 通过肾形成区域的横切面。(B) 通过胚胎中线的矢状切面（参考 Sadler 2009）。

肠管前后两端的开口很独特，因为它们是内胚层与外胚层相遇的唯一胚胎区域。最初，口端在**口板**（**oral plate**）的位置被内胚层细胞的一个区域所封闭，这些内胚层细胞与口部外胚层，也就是**口凹**（**stomodeum**）相连接。最终（在人胚胎大约是第 22 天），口板破裂，建立了消化管的口腔开口。这个开口本身由外胚层细胞内衬。这种排列产生了一个有趣的状态，因为口板外胚层与已经向胚胎腹部周围弯曲的脑外胚层相接触。这两个外胚层区域相互作用，使口部区域的顶板形成拉司克囊并变成垂体的腺体部分。间脑底板的神经组织形成漏斗，将变成垂体的神经部分。因此，垂体有双重起源，这会体现在它的成体功能。在肛门处有类似的内胚层和外胚层接触，这被称为**肛直肠连接**（**anorectal junction**）。

20.1 咽

消化管和呼吸管的前端内胚层部分起始于咽。使用一个仅在内胚层激活的报道基因（上述的 *Sox17*），Rothova 及其同事（2012）发现哺乳动物口部的外胚层和内胚层之间有一个分界线。在哺乳动物中，牙和主要的唾液腺来自外胚层。前部的味蕾来自外胚层（由颅基板产生；见第 16 章）；但后部的味蕾，以及一些后部的唾液腺和黏液腺都来源于内胚层。

哺乳类胚胎期的咽有 4 对内胚层来源的**咽囊**（**pharyngeal pouch**）。在这些咽囊之间有 4 对**咽弓**（**pharyngeal arch**）。第一对咽囊变成中耳的听觉腔及相关的咽鼓管。第二对咽囊形成扁桃体的壁。胸腺来自第三对咽囊，在发育后期引导 T 淋巴细胞的分化。一对甲状旁腺也来自第三对咽囊，而另一对来自第四对咽囊（**图 20.4**）。除了这些成对的咽囊，在咽底板的第二对咽囊之间形成一个小的中央憩室。这个内胚层和间充质的囊将从咽部芽出，并迁移到颈下形成甲状腺。呼吸管从咽底板（第四对咽囊之间）芽出后形成肺，我们将在下面描述。

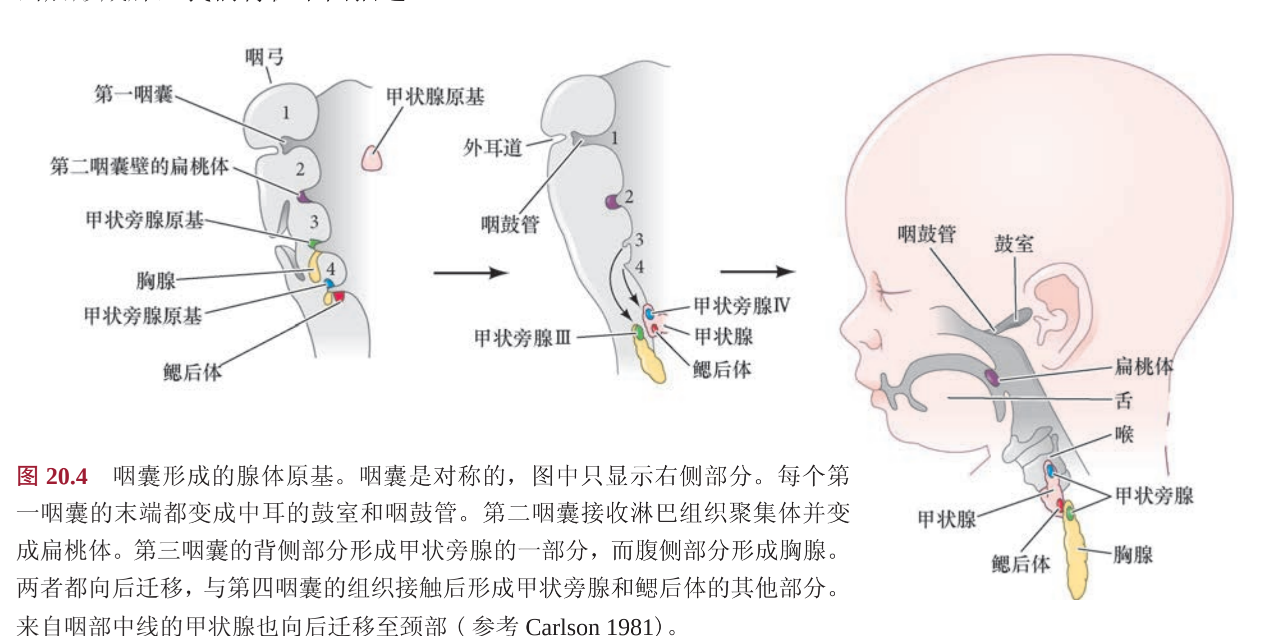


图 20.4 咽囊形成的腺体原基。咽囊是对称的，图中只显示右侧部分。每个第一咽囊的末端都变成中耳的鼓室和咽鼓管。第二咽囊接收淋巴组织聚集体并变成扁桃体。第三咽囊的背侧部分形成甲状旁腺的一部分，而腹侧部分形成胸腺。两者都向后迁移，与第四咽囊的组织接触后形成甲状旁腺和鳃后体的其他部分。来自咽部中线的甲状腺也向后迁移至颈部（参考 Carlson 1981）。

很多颅神经嵴细胞流迁移到正在形成甲状腺、甲状旁腺和胸腺的咽囊。来自内胚层的 Sonic hedgehog 似乎作为一个存活因子，阻止神经嵴细胞的凋亡（Moore-Scott and Manley 2005；见第 15 章）。另外，对斑马鱼中的遗传分析结合移植研究表明，来自外胚层和中胚层的成纤维细胞生长因子（主要是成纤维细胞生长因子 -3 和成纤维细胞生长因子 -8）不仅对神经嵴细胞的迁移和存活有重要作用，而且对咽囊自身的形成也很重要。缺失成纤维细胞生长因子 -8 和成纤维细胞生长因子 -3 这两个基因的小鼠不具有任何咽囊，即使这些小鼠仍有内胚层。在这些突变体中，内胚层不向侧部和腹部迁移形成咽囊，而是滞留在咽

的前端，不向外扩散（Crump et al. 2004）。

20.2　消化管及其衍生物

在内胚层管的形成过程中，来自侧板中胚层脏壁部分的间充质细胞包裹内胚层（见图 20.3）。内胚层细胞只产生消化管及其腺体的内衬，而脏壁中胚层的间充质细胞环围消化管，并将提供产生蠕动收缩的平滑肌。在咽的后部，消化管收缩形成食管，然后依次是胃、小肠和大肠。

如**图 20.5A** 所示，胃在靠近咽的位置发育成肠管的膨胀部分。肠在更靠后部的位置形成，并且肠和卵黄囊之间的连接最终被隔开。肠最初终止在内胚层的泄殖腔，但在泄殖腔分成膀胱和直肠两个部分后（见第 18 章），肠便与直肠相连接。在直肠的后端，内胚层与上部外胚层的接触处形成一个凹陷，一个薄的**泄殖腔膜**（**cloacal membrane**）将这两个组织隔开。在泄殖腔膜最终破裂时，由此产生的开口变成肛门。

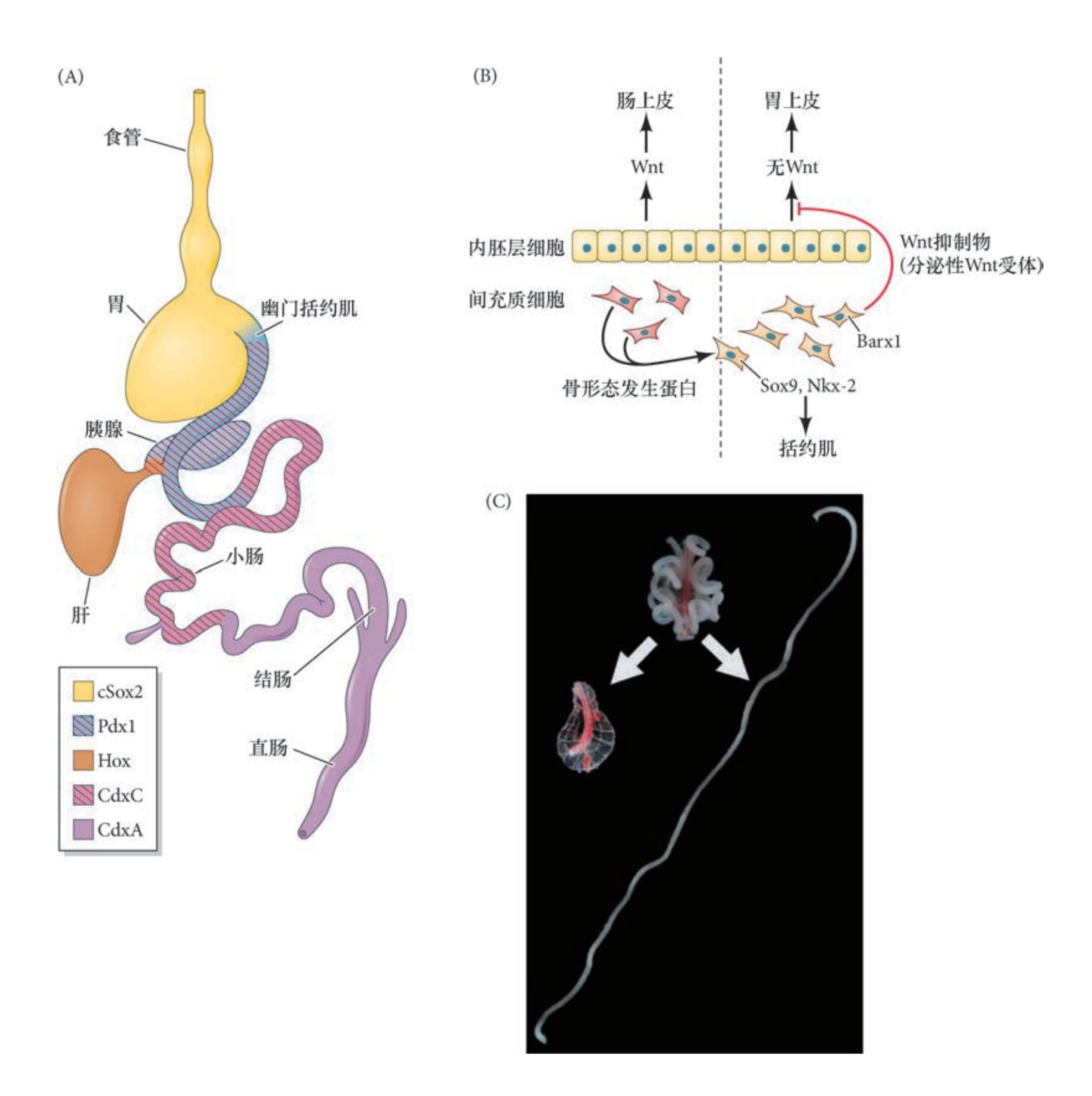


图 20.5　肠内胚层与脏壁中胚层通过相互作用而产生区域性特化。（A）鸡的肠内胚层（成熟）表达的区域性转录因子（CdxA 和 CdxC 是 Cdx1 和 Cdx2 在鸟类的同源物）。这些因子在内胚层与中胚层相互作用之前就已经表达，但不稳定。（B）取决于内胚层的位置，间充质细胞诱导内胚层形成肠或胃的可能机制。（C）在第 12 天将鸡胚胎的内胚层肠管与背系膜进行手术分离，这样就会导致背系膜萎缩和肠管变直。最初的肠 - 背系膜连接（上部）将消化管维持在正常的位置。当这两部分在第 20 天的胚胎中被分开时，背系膜（左）萎缩，肠管（右）变直（A 图参考 Grapin-Botton et al. 2001；C 图参考 Savin et al. 2011）。

20.2.1 肠组织的特化

内胚层的产生是胚胎做出的最初决定之一，转录因子 **Sox17** 在这个特化中至关重要。在两栖类胚胎中，内胚层在表达 Sox17 的情况下自主性特化。显性失活形式的 Sox17（激活域被抑制域取代）在两栖类的植物极卵裂球中能阻断内胚层的形成，而高表达野生型 Sox17 则扩张内胚层区域（Hudson et al. 1997；Henry and Melton 1998）。缺失 *Sox17* 的小鼠和斑马鱼呈现出肠内胚层缺陷，如果用实验的方法使胚胎干细胞表达 *Sox17*，这些干细胞就会产生内胚层衍生物（Kanai-Azuma et al. 2002；Takayama et al. 2011）。

虽然 Sox17 帮助特化消化管，但它并没有赋予消化管所具有的显著极性。消化管从咽延伸至肛门，沿途分化形成食管、胃、十二指肠和肠，并发出分支形成（除了其他组织以外）甲状腺、胸腺、胰腺和肝。是什么告诉内胚层管在特定的位置形成这些特殊的组织？为什么我们从来没有看到一张嘴直接开口于胃？内胚层和脏壁侧板中胚层经历一系列复杂的相互作用，产生不同肠组织的信号似乎在所有脊椎动物纲中都是保守的（见 Wallace and Pack 2003）。解释肠管极性的一个可能性模型起始于咽的特化，然后是肠管其他部分的特化。在鸡胚胎中使用含有视黄酸或视黄酸合成抑制物的珠子的研究（Bayha et al. 2009）显示，咽只能在含有很少或不含视黄酸的区域形成，而视黄酸梯度以分级的方式图式化咽弓内胚层。这很可能是通过激活和抑制一些特定转录因子的基因来实现的。

肠特化的第二阶段被认为涉及内胚层肠管周围的脏壁中胚层来源的间充质信号。由于消化管接触不同的间充质，这些间充质细胞指令内胚层分化成食管、胃、小肠和结肠（Okada Gumpel-Pinot et al. 1978；Fukumachi and Takayama 1980；Kedinger et al. 1990）。Wnt 信号被认为具有特别重要的作用。整个肠管的初始（“默认”）特化状态被认为是前端（即胃 / 食管）。但是，后部中胚层（受视黄酸和成纤维细胞生长因子梯度的指令）的 Wnt 信号梯度在肠内胚层中诱导后部化转录因子 Cdx1 和 Cdx2（见图 20.5A），以及旁分泌因子 Indian hedgehog。高浓度的转录因子 Cdx 诱导大肠的形成，而较低浓度诱导小肠的形成。的确，如果在前肠组织中人为地表达 β- 联蛋白，*Cdx2* 基因被激活，前部内胚层组织被转变成更后部的肠组织类型（Sherwood et al. 2011；Stringer et al. 2012）。

间充质 Wnt 信号影响肠管的分子途径正在被鉴别出来（**图 20.5B**）。例如，Cdx2 抑制 *Hhex* 等基因，从而阻止胃、肝和胰腺在肠管后部形成（Bossard and Zaret 2000；McLin et al. 2007）。在肠管前部（这些区域形成胸腺、胰腺、胃和肝），Wnt 信号被阻断。在胃形成的区域，肠管周围的间充质表达转录因子 Barx1，它能激活两个 Frzb 样的 Wnt 拮抗剂（sFRP1 和 sFRP2 蛋白）的表达。这两个分泌性的 Wnt 受体在胃附近，但不在肠管周围抑制 Wnt 信号。的确，缺失 *Barx1* 的小鼠不能形成胃，在应该形成胃的组织中表达肠标记物基因（Kim et al. 2005）。

基于 Wnt 信号所建立的极性可能是短暂的，需要通过内胚层与周围间充质的进一步相互作用来加强和细调。Roberts 及其同事（1995，1998）显示了 Sonic hedgehog（Shh）在内胚层特化中的作用。Shh 被认为由内胚层产生，以不同的浓度分泌到不同的位置。它的靶点似乎是肠管周围的中胚层细胞。后肠内胚层分泌的 Shh 在中胚层诱导嵌套图式的“后端”同源异形基因的表达。与椎骨中的情况一样（见第 12 章），同源异形基因表达的前缘确定了一些区域的形态边界，这些区域将形成泄殖腔、大肠、盲肠、中盲肠（在中肠 - 后肠的边界处）和中肠的后端部分（Roberts et al. 1995；Yokouchi et al. 1995）。如果用实验的方法使病毒携带的同源异形基因在中胚层异常表达，中胚层细胞就会改变相邻内胚层的分化（Roberts et al. 1998）。同源异形基因被认为参与特化中胚层，使中胚层进一步与内胚层管相互作用，更精细地特化内胚层的区域。

一旦转录因子的边界建立，分化就会开始。中胚层的区域性分化（形成各种平滑肌类型）和内胚层的区域性分化（形成不同的功能单位，如胃、十二指肠和小肠）相同步。例如，在一些区域，肠间充质分泌的骨形态发生蛋白 -4 指令其前部的中胚层表达转录因子 Sox9 和 Nkx2-5。这两个因子使中胚层变成

幽门括约肌的平滑肌，而不是正常环围胃和肠的平滑肌（Theodosiou and Tabin 2005）。

脏壁中胚层与内胚层之间的相互作用在发育的特化阶段之后仍然持续很长时间。脏壁中胚层的一个衍生物是**背系膜**（**dorsal mesentery**），这是一个连接内胚层和体壁的纤维状膜。肠管的环化由内胚层内在的生长配以内胚层与背系膜的连接而共同驱动（Savin et al. 2011）。如果连接被隔断，肠系膜皱缩，肠就会变成一个长而薄的无折叠管（**图 20.5C**）。

中胚层与内胚层的相互作用对肠绒毛的形成也很重要。中胚层平滑肌的分化使正在下部生长的内胚层和间充质收缩，由此产生的压缩应力导致内胚层弯曲，最终使绒毛形成（Shyer et al. 2013）。这种弯曲对肠干细胞在绒毛基部的定位至关重要。最初，所有的肠管细胞都具有变成干细胞的潜能，但是肠的弯曲使某些组织比其他组织更容易相互作用，这样使一些抑制性旁分泌因子（最重要的是骨形态发生蛋白 -4）将干细胞的形成限制在离绒毛顶端最远的区域（Shyer et al. 2015）。

拓展性问题

主要的人类出生缺陷之一是幽门狭窄，这是一种幽门括约肌增厚并阻止食物进入肠的状态。这些肌肉是怎样产生和发挥作用的？是什么导致了这种缺陷？

科学家讲座 20.1　Cliff Tabin 和 Amy Shyer 博士讲述肠干细胞怎样到达正确的位置。

肠的进一步发育涉及：①帕内特细胞和肠干细胞后代的分化，这在第 5 章已经予以讨论；②肠上皮与共生细菌之间的相互作用，以完成细胞类型的分化，这将在第 25 章予以讨论。有趣的是，在至少一部分内胚层中，已经分化的细胞可以恢复成为干细胞。这可能是由于它们在我们进食和呼吸时被暴露于外界环境的原因。如果将干细胞从胃中去除，一种分化的分泌性细胞（称为主细胞）就会失去它的分化特性而变成干细胞（Stang et al. 2013）。类似地，如果初始的干细胞被去除，气管的分化细胞能分裂产生肺干细胞（Tata et al. 2013）。甚至是肠的帕内特细胞前体，通常被定型向分化的帕内特细胞和肠内分泌细胞成熟，在肠管受损时也能返回到干细胞状态（Buczaki et al. 2013）。因此，虽然不是独特的，内胚层在分化细胞和干细胞之间具有极为显著的高度可塑性。

20.2.2　附属器官：肝、胰腺和胆囊

内胚层形成三个附属器官（肝、胰和胆囊）的内衬，这些器官在紧邻胃的后部形成。**肝憩室**（**hepatic diverticulum**）从内胚层芽出，并从前肠向外延伸进入周围的间充质。组成这个芽的内胚层来自两个细胞群体：侧部的一组只形成肝细胞；腹内侧的内胚层细胞形成包括肝在内的多个中肠区域（Tremblay and Zaret 2005）。间充质诱导内胚层增殖、分支并形成肝的腺上皮。肝憩室的一部分（离消化管最近的区域）继续作为肝的引流管发挥作用，而这个导管的一个分支产生胆囊（**图 20.6**）。胰腺由不同的背侧和腹侧憩室融合而发育形成。它们在不断生长时变得越来越接近，最终融合在一起。在人类，只有腹侧的管存活下来，将消化酶输送到肠。在其他物种（如狗），背侧和腹侧的胰管都开口于肠。

前肠后部的内胚层含有能产生胰腺、肝和胆囊的祖细胞。脏壁侧板中胚层与前肠内胚层之间有一种密切的关系。正如前肠内胚层对特化生心中胚层很关键一样，中胚层，特别是血液 - 血管内皮细胞，诱导内胚层管产生肝原基和胰腺原基。

前肠腹侧内胚层中的局限性多能干细胞的染色质可能已经处在差异性激活的待发状态。参与形成肝祖细胞的基因和参与形成胰腺祖细胞的基因以不同的方式被沉默。因此，一个单一的信号可能对一整套特化基因进行解抑制（Xu et al. 2011；Zaret 2016）。

肝的形成　肝特异性基因（如编码 α- 甲胎蛋白和白蛋白的基因）能表达在接触生心中胚层的任何肠管区域。但是，只有当脊索被移除时这种诱导才会发生。如果将脊索放置在通常被生心中胚层诱导形成

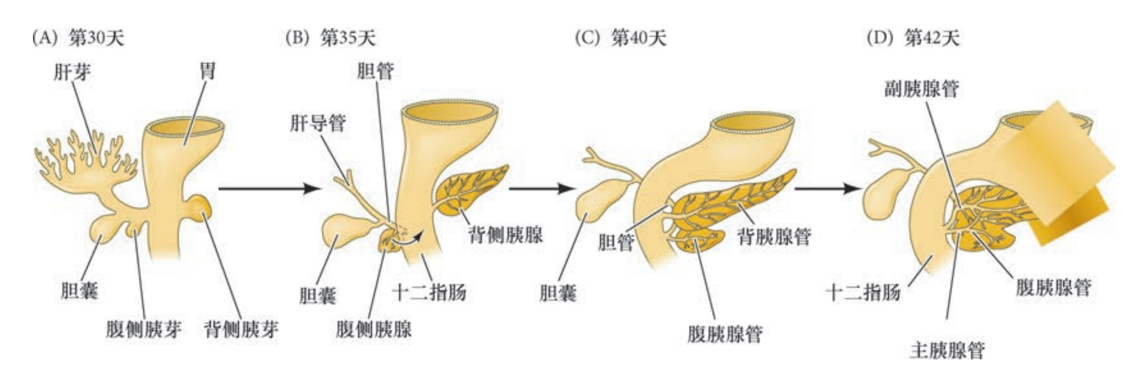


图 20.6 人类胰腺的发育。(A) 在第 30 天，腹侧胰芽接近肝原基。(B) 在第 35 天，它开始向后迁移，并在第 6 周的发育过程中与背侧胰芽相接触 (C)。(D) 在大多数个体中，背侧胰芽失去通向十二指肠的导管，但是在大约 10% 的人群中，双管系统持续存在。

肝脏的内胚层部分，这时内胚层将不能形成肝组织。因此，发育中的心脏似乎诱导肝形成，而脊索的存在则抑制肝的形成（图 20.7）。这种诱导很可能是因为发育中的心脏和内皮细胞分泌成纤维细胞生长因子（Le Douarin 1975；Gualdi et al. 1996；Jung et al. 1999；Matsumoto et al. 2001）。来自侧板中胚层的骨形态发生蛋白（可能还有 Wnt）信号对肝的形成也是必需的（Zhang et al. 2004；Ober et al. 2007）。因此，心脏和内皮细胞除了具有循环作用外，还具有发育功能：它们通过分泌一些旁分泌因子来帮助诱导肝芽的形成。

但为了应答成纤维细胞生长因子信号，内胚层必须变得有应答能力。叉头框转录因子赋予前肠内胚层这种能力。叉头框转录因子 Foxa1 和 Foxa2 对开放肝特异基因周围的染色质是必需的。这些先锋转录因子将核小体从这些基因周围的调控区置换，并且需要在纤维细胞生长因子信号输入之前起作用（Lee et al. 2005；Hirai et al. 2010）。内胚层中缺失 *Foxa1* 和 *Foxa2* 基因表达的小鼠胚胎不能形成肝芽，或不能表达肝特异性酶。

一旦有信号输入，其他叉头框转录因子，如肝细胞核因子 -4α，就会发挥关键作用。肝细胞核因子 -4α 对肝芽向肝组织的形态和生化分化至关重要 (Parviz et al. 2003)。如果制备肝细胞核因子 -4α 的条件性突变体，仅使发育中的肝缺失这个因子，那么肝芽细胞既没有组织构造、细胞结构，也没有肝特异酶。

两种主要的肝细胞类型是**肝细胞**（**hepatocyte**）和形成胆管细胞的**胆管上皮细胞**（**cholangiocyte**）或胆管细胞（见图 20.2）。转化生长因子 -β 家族的旁分泌因子及来自血管的 Notch 信号似乎刺激胆管细胞的产生，而糖皮质激素和其他旁分泌因子（肝细胞生长因子和 Wnt）帮助特化肝细胞（Schmidtet al. 1995；Clotman et al. 2005）。另外，肝中还有包括**窦内皮细胞**（**sinusoidal endothelial cell**）在内的其他细胞。它们都是在肝中构建血管的特殊内胚层细胞（Goldman et al. 2014）。这些细胞对肝的功能至关重要，因为它们将养分和有毒物质带入肝脏，以进行代谢和降解。窦内皮细胞在肝再生中似乎也有关键作用，因为它们是两种旁分泌因子（肝细胞生长因子和血管生成素 -2）的来源，这两种因子对成肝干细胞的有组织性分裂至关重要（Ding et al. 2010；DeLeve 2013；Hu et al. 2014）。哺乳动物肝的再生能力一直是一个引人入胜的话题，因为它只生长出与去除或损毁部分等量的肝组织。我

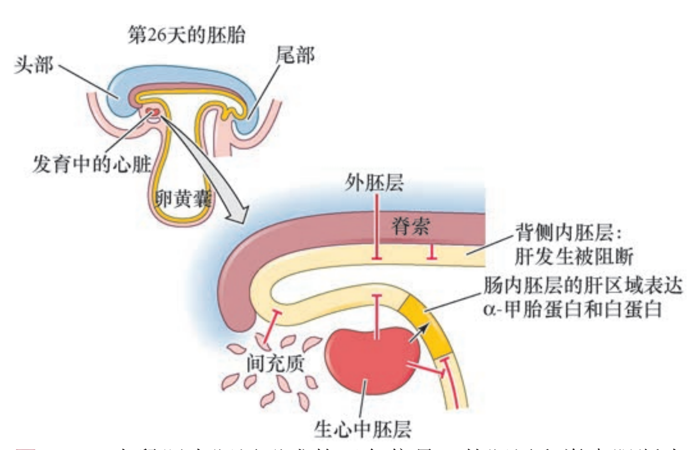


图 20.7 小鼠肝内胚层形成的正负信号。外胚层和脊索阻断内胚层表达肝特异基因的能力。很可能依赖于成纤维细胞生长因子 -1 和成纤维细胞生长因子 -2，生心中胚层通过阻断周围组织所诱导的抑制性因子，促进肝特异基因的转录（参考 Gualdi et al. 1996）。

们刚刚开始了解我们的身体是怎样做到这一点的，而且我们将在第 22 章更充分地讨论肝再生。

胰腺的形成　胰腺的形成可能是肝形成的另一面。虽然心脏细胞促进而脊索阻止肝的形成，但脊索可能活跃促进胰腺的形成，心脏却可能阻止胰腺的形成。消化管的这个特殊区域似乎具有形成胰腺或肝的能力。一些条件（有心脏而无脊索）诱导肝，而相反的条件（有脊索而无心脏）引起胰腺的形成。

脊索通过抑制内胚层中 *Shh* 的表达来激活胰腺的发育（Apelqvist et al. 1997；Hebrok et al. 1998）。这是一个令人惊讶的发现，因为脊索是 Shh 蛋白的来源，并且还是外胚层组织进一步表达 *Shh* 的诱导物。Sonic hedgehog 表达在整个肠内胚层，除了在将要形成胰腺的区域。脊索在这个区域分泌成纤维细胞生长因子 -2 和激活蛋白，这两个因子能够下调 *Shh* 的表达。如果通过实验的方法将 *Shh* 表达在这个区域，那么这个区域的组织就能恢复成为肠组织（Jonnson et al. 1994；Ahlgren et al. 1996；Offield et al. 1996）。

肠的胰腺形成区域中 Shh 的缺失似乎能使这个区域应答来自血管内皮的信号。的确，胰腺的发育准确地起始于前肠内胚层接触主要血管内皮的三个位置。正是这些位点（内胚层管接触主动脉和卵黄静脉）表达转录因子 Pdx1 和 Ptf1a（**图 20.8A ～ C**；Lammert et al. 2001；Yoshitomi and Zaret 2004）。如果将血管从这个区域去除，表达 *Pdx1* 和 *Ptf1a* 的区域就不能形成，胰腺内胚层就不能萌芽。如果这个区域形成更多的血管，更多的内胚层管将变成胰腺组织。

分泌胰岛素的胰腺细胞　胰腺组织与血管的联结对胰腺中胰岛素分泌细胞的形成至关重要。Pdx1 似乎与其他转录因子协调作用以形成胰腺的内分泌细胞，即胰岛（Odom et al. 2004；Burlison et al. 2008；Dong et al. 2008）。外分泌细胞（产生消化酶，如糜蛋白酶）和内分泌细胞（产生胰岛素、胰高血糖素和生长抑素）似乎具有相同的祖细胞（Fishman and Melton 2002），而且 Ptf1a 的水平似乎在这些谱系中调节细胞的比例。外分泌细胞的 Ptf1a 表达量较高（Dong et al. 2008）。胰岛细胞分泌血管内皮生长因子以吸引血管，而这些血管环绕发育中的胰岛（**图 20.8D**）。

内分泌祖细胞形成两个群体。一个是胰岛的 β 和 δ 细胞的祖细胞，另一个是 α 细胞和胰多肽细胞（胰多肽是调节肠内分泌的激素）的祖细胞。β 和 δ 细胞的祖细胞表达转录因子 Pax4，而 α/ 胰多肽细胞的祖细胞表达 Arx。这是一些相互排斥的状态，所以一个细胞只能变成一种类型或另一种类型。如果细胞

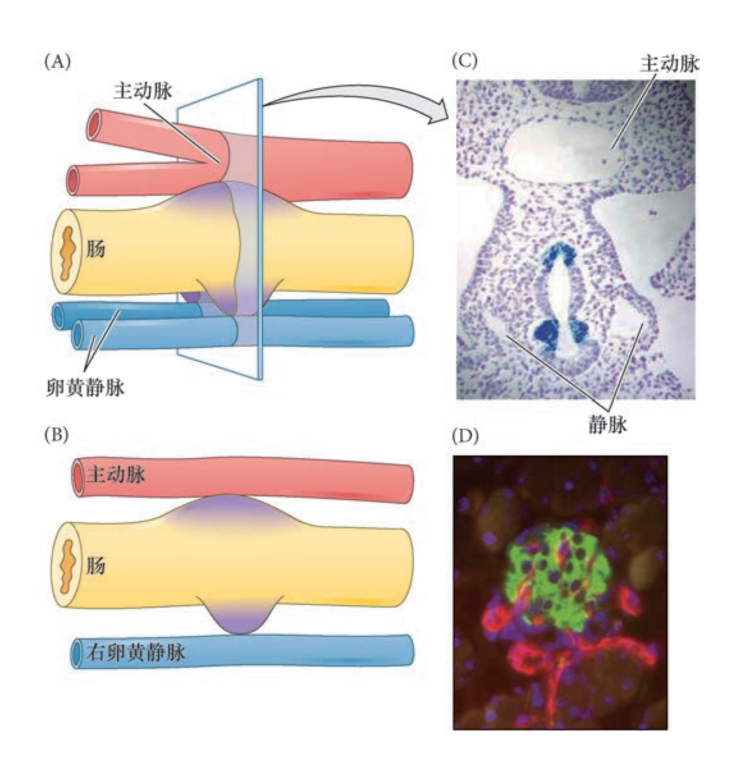


图 20.8　肠上皮中 *Pdx1* 基因表达的诱导。(A) 在鸡胚胎中，*Pdx1*（紫色）在肠管表达，并受肠管与主动脉和卵黄静脉的接触所诱导。*Pdx1* 基因的表达区域建立胰腺的背侧和腹侧原基。(B) 在小鼠胚胎中，只有右侧的卵黄静脉存活下来，它与肠内皮相接触。*Pdx1* 基因仅表达在这一侧，并且只出现一个腹侧胰芽。(C) 在小鼠胚胎中通过血管和肠管相接触区域的切片原位杂交显示 *Pdx1* 的 mRNA 表达。*Pdx1* 的表达区域呈深蓝色。(D) 血管（染为红色）引导鸡胚胎胰岛（用抗胰岛素的抗体染为绿色）分化。细胞核被染成深蓝色（参考 Lammert et al. 2001，由 D. Melton 提供）。

表达 Pax4（将成为 β/δ 祖细胞），它将有一个进一步的选择。如果它表达 MafA 的基因，它就变成一个能分泌胰岛素的 β 细胞。如果它不表达 MafA，它就变成一个 δ 细胞（图 20.9）。

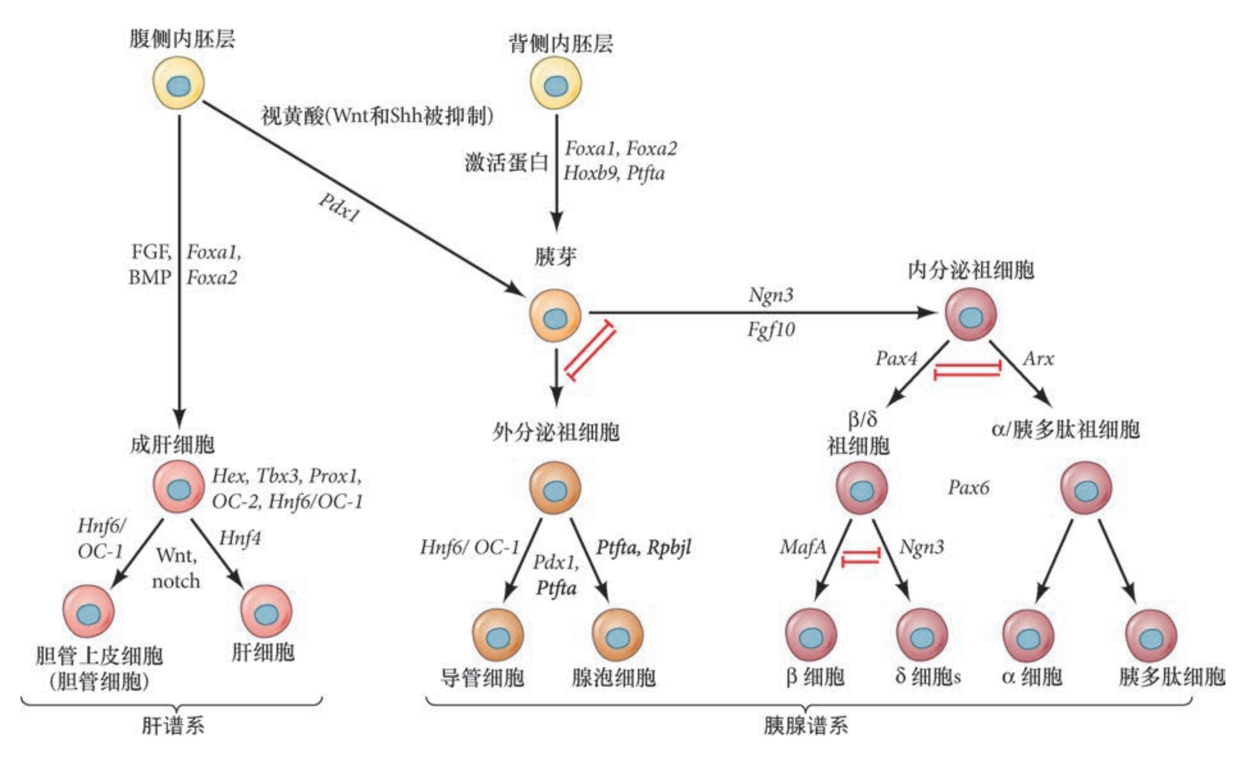


图 20.9　胰腺和肝细胞谱系。所有的胰腺细胞都表达 *Pdx1*，这使它们有别于将要形成肝的细胞。在胰腺谱系中，表达 *Ngn3* 的内分泌祖细胞产生内分泌谱系，而表达 *Ptf1a* 的细胞产生形成胰管和腺泡细胞（分泌消化酶）的外分泌祖细胞。内分泌祖细胞能产生两种谱系，一种能形成 β 细胞和 δ 细胞，另一种能形成 α 细胞和胰多肽细胞。FGF：成纤维细胞生长因子；BMP：骨形态发生蛋白；*Hnf*：肝细胞核因子（参考 Zhou et al. 2011）。

在图 20.9 中显示的层次性二分系统很像单一造血干细胞产生血液的方案（见图 18.24）。Zhou 及其同事 (2011) 的模型提示，不同的细胞类型可以被视为由共同一组转录因子的可能性相互作用所产生的吸引子状态。的确，Dhawan 及其同事 (2011) 发现，在产生胰岛素的 β 细胞中敲除 DNA 甲基化酶 -1 的基因时，甲基化图式发生了变化，使得 *Arx* 启动子被解抑制，*Arx* 基因被激活，这将 β 细胞转变成产生胰高血糖素的 δ 细胞。因此，胰腺 β 细胞的特征通过甲基化介导的 *Arx* 基因抑制而得以维持。

这些转录因子网络能将一种细胞类型重编程为另一种细胞类型。Horb 及其同事 (2003) 表明，Pdx1 能将发育中的肝组织重新特化成胰腺。在非洲爪蛙蝌蚪中导入肝细胞特异启动子驱动的 *pdx1* 基因时，Pdx1 蛋白在肝中表达，肝被转变成含有外分泌和内分泌细胞的胰腺。因此，Pdx1 似乎是区别肝和胰腺发育图式的关键因子。如第 5 章所述，Ngn3、Pdx1 和 MafA 的表达将成年小鼠中分化的外分泌胰腺细胞重编程为功能性的 β 细胞（见图 3.15；Zhou et al. 2007）。

产生功能性的胰腺 β 细胞　发育生物学的最重要潜在医学应用之一是用新的功能性细胞对缺失或损坏细胞进行转变或替换。我们在第 5 章讨论了诱导多能干细胞。人的皮肤细胞能通过激活某些转录因子而转变成多能干细胞，这些转录因子能将成体细胞恢复成类似于（或者相同于）内细胞团的胚胎干细胞状态。一些旁分泌因子在正确的时间、以正确的剂量，能在体外复制胚胎中的状态，使细胞分化成特定的细胞类型。在 2014 年，有两个实验室发现了逐步诱导产生功能性胰岛素分泌型 β 细胞的正确条件顺序 (Pagliuca et al. 2014；Rezania et al. 2014)。这些 β 细胞能够在小鼠中治愈糖尿病。

对于这项工作，认识其中所涉及的旁分泌因子及其抑制物至关重要（图 20.10）。例如，将诱导多能干细胞转变成与定型内胚层表达相同转录因子（即 SOX17 和 FOXA2）的细胞时，转化生长因子 -β 家族成员和经典 Wnt 途径的抑制物是必需的。成纤维细胞生长因子家族成员能将定形内胚层细胞转变成与原始前肠细胞具有相同转录因子复合物（FOXA2、肝细胞核因子 -1B）的细胞。然后使这些细胞接触 Hedgehog 途径的抑制物（模拟脊索）及其他因子，以产生胰腺内胚层。其他一些旁分泌因子、维生素及抑制物能使细胞逐步变成胰腺内分泌前体细胞，最终成熟为分泌胰岛素的胰腺 β 细胞。这些细胞不仅看上去像正常的胰腺 β 细胞，具有相同的转录因子激活图式，而且在葡萄糖刺激下它们也分泌胰岛素。将这些细胞注射到小鼠体内时，它们就像正常的胰腺 β 细胞一样能调节葡萄糖水平（见图 20.10）。

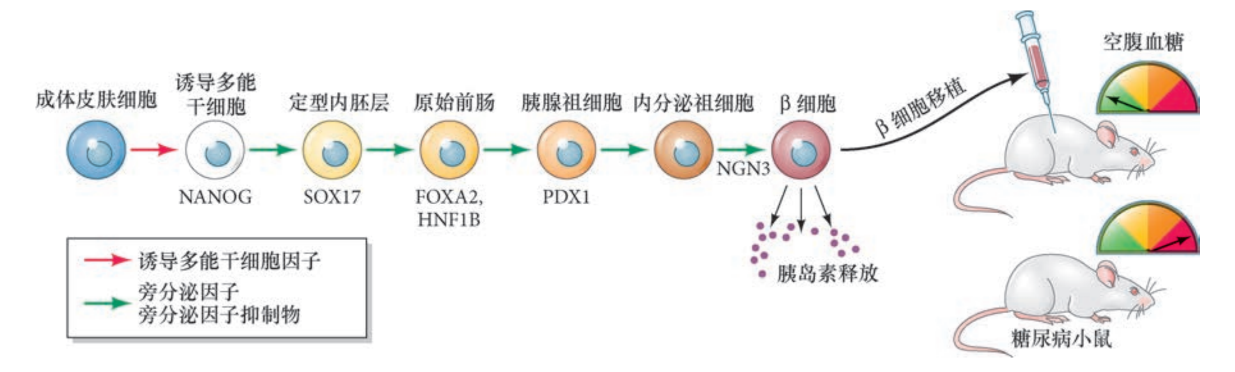


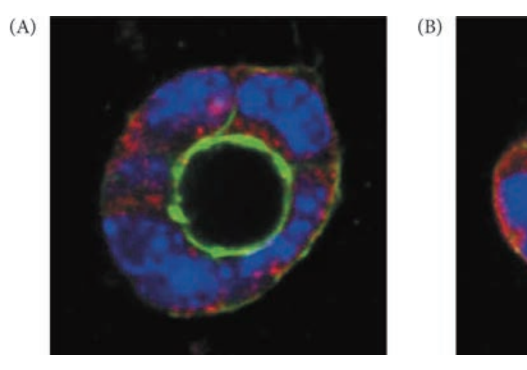
图 20.10 在成体细胞中产生功能性的胰岛素分泌型人类 β 细胞。利用第 5 章提及的转录因子将成人的皮肤细胞转变成诱导多能干细胞。诱导多能干细胞在胚胎中几乎能变成任何细胞。为了使细胞变成胰腺 β 细胞，研究人员逐渐模拟胚胎中的条件。这意味着提供一些旁分泌因子和旁分泌因子的抑制物。诱导多能干细胞首先变成具有原始内胚层的转录因子图式的细胞类型。然后，它们依次变得像前肠细胞、胰腺细胞、胰腺内分泌细胞，最后（经过一些在这里没有显示中间步骤）变成胰腺 β 细胞。这些 β 细胞被移植到小鼠体内后能调节葡萄糖水平，并治愈小鼠模型的糖尿病（参考 Pagliuca et al. 2014；Rezania et al. 2014）。

然而，这些结果仍然不能将人类的糖尿病“治愈”。人类的 1 型糖尿病是一种自身免疫疾病，患者产生的抗体能破坏他或她自身的 β 细胞，并且新产生的 β 细胞更易于受到这种破坏。但是，因为现在能生长出数百万诱导的 β 细胞，它们也许可以提供一种姑息治疗，直到我们找出一个阻止自身免疫摧毁 β 细胞的方式。这个研究领域的目标是使诱导的 β 细胞在一生中都能在体内维持下去。

科学家讲座 20.2 Doug Melton 博士回顾科学生活及发育生物学认知如何能帮助治疗疾病。

胆囊 胆囊的来源还没有被很好地描述。事实上，形成小鼠胆囊的内胚层命运图谱在 2015 年才完成。Uemura 及其同事使用细胞膜荧光红色探针（DiI）标记显示，大多数胆囊祖细胞位于前肠内胚层的最外侧区域，处在第 1 和第 2 体节交界处的水平（Uemura et al. 2015）。

关于胆囊发育的一个有趣的发现是一些哺乳动物（包括一些人类婴儿）在出生时患有胆道闭锁，即胆囊的胆管被堵塞。没有人知道这是怎么发生的。然而，澳大利亚家畜中胆道闭锁疾病的暴发引起了人们对这种疾病的关注。一个国际科学家小组认为，长期的干旱导致藜草植物被推广用来作为饲料，这种植物含有一种致畸性毒素，即肝外胆道毒素，能特异性地干扰胆囊发育（图 20.11）。在斑马鱼（比其他生物的成本较低）中筛选了几千种化合物后，他们发现这种特殊的化合物能阻塞发育中的胆管。这说明一个环境化合物能引起这种疾病，而且生物学家正在其他植物中寻找这种化合物。



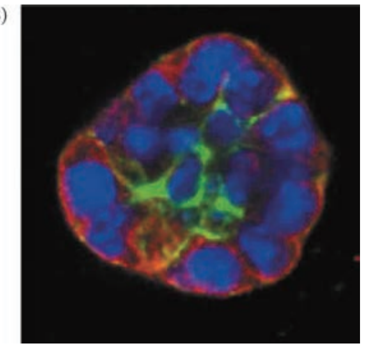
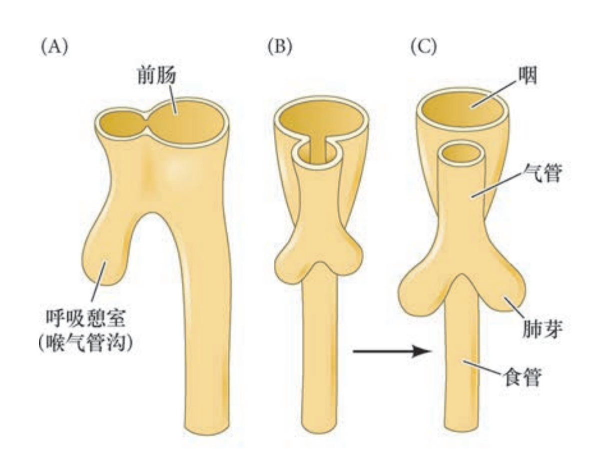


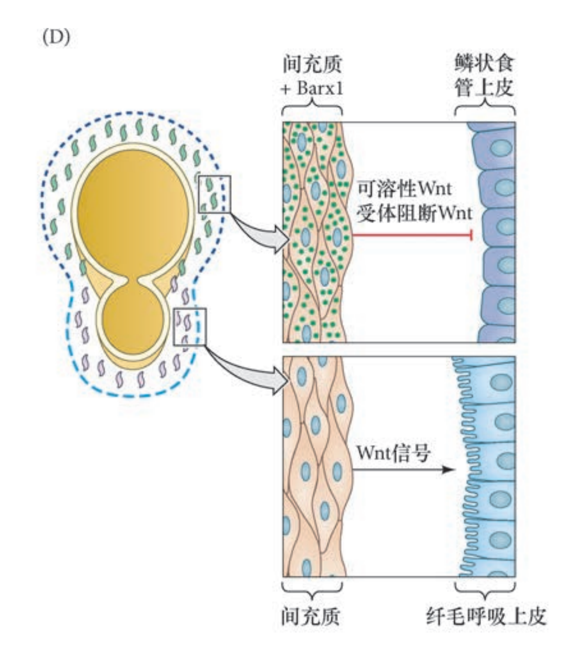
图 20.11 植物化合物引起的胆道闭锁。(A) 在三维培养的胆囊细胞形成具有开放管腔的小球，很像正常的胆管。(B) 使用藜草的致畸性化合物肝外胆道毒素处理小鼠后，细胞的极性被改变，管腔被阻塞（来自 Lorent et al. 2015，由 M. Pack 提供）。

20.3 呼吸管

虽然没有消化作用，但肺实际上是消化管的一个衍生物。在第四对咽囊之间的咽底部中央，**喉气管沟**（**laryngotracheal groove**）向腹部延伸（图 20.12A ~ C）。这个沟然后分叉成支，产生成对的支气管和肺。喉气管内胚层变成气管、两个支气管及肺气囊（肺泡）的内衬。有时，这个分离不完全，婴儿出生时肠管和呼吸管之间有一个连接。这种消化和呼吸疾病被称为**气管食管瘘**（**tracheal-esophageal fistula**），对这种疾病必须进行手术修复以保证婴儿能够正常呼吸和吞咽。

气管从食管的分离是内胚层和特定间充质之间相互作用的另一个例子。在稍后的发育中，内胚层管的差异存在于身体的背侧和腹侧区域。间充质的 Wnt 信号引起 β- 联蛋白在将要形成肺和气管的肠管区域积聚。如果没有这些信号，肠管与气管就不能分离，气管也不能向肺发育（Goss et al. 2009）。相反，β- 联蛋白在肠管异位表达时能形成额外的肺（Harris-Johnson et al. 2009）。





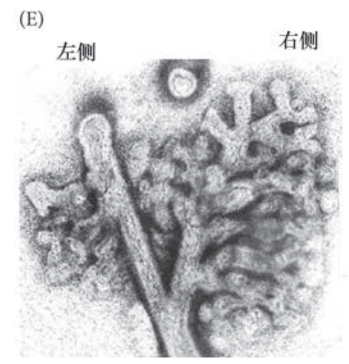


图 20.12 在人类妊娠的第 3 周和第 4 周期间，前肠分隔形成食管和呼吸憩室。(A，B) 第 3 周结束时的侧部和腹部观。(C) 第 4 周的腹部观。(D)Wnt 信号和表达 *Barx1* 的间充质在食管和气管分化中的作用模型。当 Barx1 蛋白不表达而 Wnt 信号激活时，*Nkx2-1* 基因表达、呼吸上皮分化。Barx1 蛋白表达时，Wnt 信号被阻断，而转录因子 Sox2 的基因被转录，在这种状态下这个区域形成食管。(E) 在小鼠胚胎的肺上皮分成两个支气管后，整个原基被切除下来进行培养。右侧支气管作为对照，而左侧支气管的顶端被气管间充质覆盖。右侧支气管的顶端形成具有肺特征的分支，而左侧支气管几乎没有分支（A ~ C 图参考 Langman 1981；D 图参考 Woo et al. 2011；E 图参考 Wessells 1970，由 N. Wessells 提供）。

呼吸管的背侧部分与表达转录因子 Barx1 的间充质保持接触，并产生阻断 Wnt 的可溶性 Wnt 受体相关蛋白；这些蛋白质能结合 Wnt 并阻止 Wnt 接触它们的细胞膜受体，从而阻断 Wnt 活性，帮助特化食管上皮。然而，呼吸管的腹侧部分与不产生可溶性 Wnt 受体相关蛋白的间充质相接触。之前曾被阻断的 Wnt 信号在这个位置将食管转变成气管的纤毛呼吸上皮（**图 20.12D**；Woo et al. 2011）。

与消化管一样，间充质的区域特异性决定发育中呼吸管的分化。在发育过程的哺乳动物中，呼吸上皮以两种不同的方式产生应答。在颈部区域，它笔直生长，形成气管。进入胸后，它分叉形成两支气管，然后形成肺。小鼠胚胎的呼吸管上皮可以在分叉形成两个支气管之后不久被分离出来，并且可以对两侧进行不同的处理。**图 20.12E** 显示右支气管上皮保留自身的肺间充质，而左支气管被气管间充质覆盖（Wessells 1970）。右支气管在肺间充质的影响下进行增殖和分支，而左支气管以不分支的方式继续生长。此外，呼吸上皮向成气管细胞或肺细胞的分化取决于它所接触的间充质（Shannon et al. 1998）。

气道干细胞在很多方面令人着迷。如前所述，内胚层能将分化的细胞恢复到干细胞状态来替换它的干细胞。在肺中，一组分化的细胞，即克拉拉细胞（又称细支气管细胞），当初始的干细胞被去除时它们能分裂产生干细胞。另外，亲代干细胞能为它们的子代细胞的发育提供微环境（Pardo-Saganta et al. 2015）。气管的基底干细胞产生一些祖细胞，将变成气道的分泌细胞和纤毛细胞。然而，祖细胞需要来自亲代细胞的 Notch 信号，以维持它们的祖细胞状态。没有 Notch 信号，它们将进行终末分化而形成纤毛细胞。因此，亲代干细胞在这里仍需“照顾”它们的子代细胞和维持子代细胞的增殖能力。

网络话题 20.1　肺的诱导　肺的诱导涉及成纤维细胞生长因子和 Sonic hedgehog 之间的相互作用。但是，这似乎不同于胰腺或肝的诱导。

肺是最后完成彻底分化的哺乳动物器官之一。肺必须能够在新生儿的第一次呼吸时带进氧气。为实现这一目标，肺泡细胞将一种表面活性物质分泌到肺的液体。这种由特定蛋白质和磷脂（如鞘磷脂和卵磷脂）组成的表面活性物质在妊娠的很晚期才被分泌；在人类，这种表面活性物质通常在妊娠的第 34 周达到有生理作用的水平。表面活性物质能够使肺泡细胞相互接触但不黏合在一起。因此，早产儿（在表面活性物质达到功能性水平之前出生）通常呼吸困难，必须放在呼吸机中，直到产生表面活性物质的细胞成熟。

哺乳动物出生在肺成熟后不久。有一些证据显示，胚胎的肺实际上可能可以提醒母亲开始分娩。Condon 及其同事（2004 年）发现，表面活性物质蛋白 A（小鼠胚胎肺产生的终末产物之一）在羊水中激活巨噬细胞。这些巨噬细胞从羊膜迁移到子宫肌肉，在那里它们产生免疫系统的蛋白质（如白细胞介素 -1β）。这个因子通过激活环加氧酶 -2（它刺激能够引起子宫肌细胞收缩的前列腺素的产生）和拮抗孕酮受体的双重作用来触发分娩收缩（**图 20.13**）。缺乏表面活物质蛋白的小鼠有明显的分娩起始延迟，而将

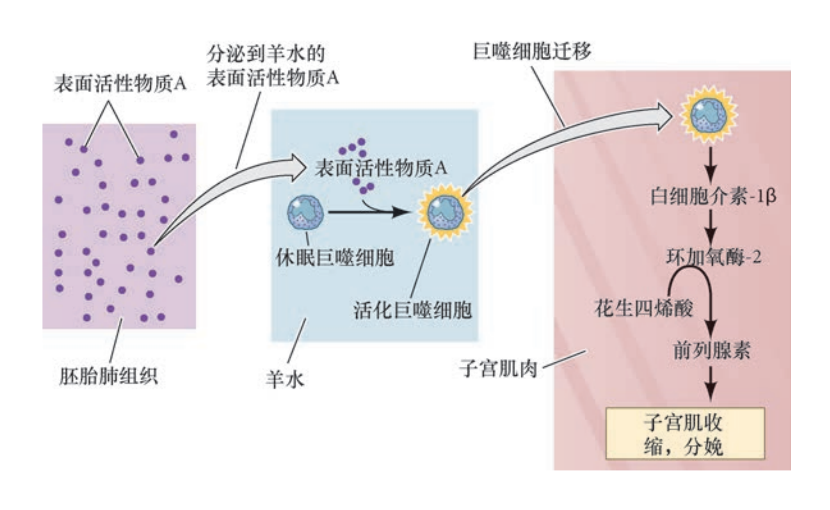


图 20.13　免疫系统传递来自胚胎肺的信号。表面活性物质蛋白 A 激活羊水中的巨噬细胞，使它们向子宫肌迁移。巨噬细胞在子宫肌分泌的白细胞介素 -1β 刺激环加氧酶 -2 的产生，这个酶进而触发参与启动子宫肌肉收缩和分娩的前列腺素激素的产生。

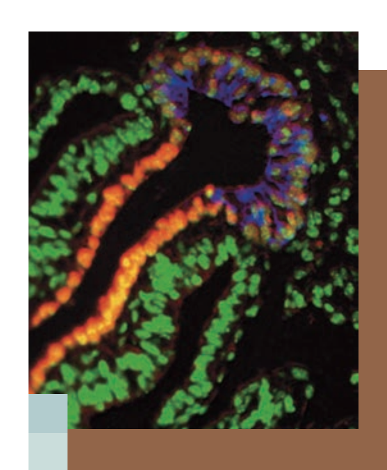
拓展性问题

当婴儿早产时，肺细胞通常没有分化。医生可以做些什么来加速肺的发育？

经过表面活性物质刺激的巨噬细胞注射到雌性小鼠子宫时能诱导早产（Montalbano et al. 2013）。因此，只有当肺已经成熟到新生儿可以进行第一次呼吸时，才开始发出起始分娩的关键信号之一，这个信号可能通过免疫系统传递给母亲。

下一步的研究

这一章不仅描述了分子因素（旁分泌因子），也讨论了物理因素（如弯曲），这些因素能引起细胞分化。最近发现了第三组因素，即共生微生物。在小鼠中，微生物将多种肠特异性基因的表达激活至正常水平。这些基因编码的蛋白质对肠的形态发生和功能有重要作用。在斑马鱼中，细菌产物诱导正常的干细胞分裂。细菌如何被整合肠的正常发育是刚开始探索的问题。我们将在第 25 章更详细地予以讨论。





开篇图的思考

在这个第 9 天的小鼠胚胎中可以看到肝原基的萌芽。细胞核被染成绿色，肠前体细胞用转录因子 FoxA2 的抗体染成橙色。染为蓝色的细胞是将要变成肝的成肝细胞，这些细胞表达含有同源异形域的转录因子 Hex，这个蛋白质改变上皮细胞的结构，使它们增殖进入间充质（照片由 Ken S. Zaret 提供）。

20 要点总结

内胚层

1. 转录因子 Sox17 对内胚层的特化有关键作用。在脊椎动物中，内胚层构建消化（肠）管和呼吸管。
2. 肠管沿着它的前 - 后轴被 Wnt、骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子的梯度分隔成三个区域。位于后部的内胚层变成中肠和后肠的一组前体细胞，将来形成肠。靠近头部的内胚层将形成前肠的前部细胞，将产生肺和甲状腺的前体。在它们之间的内胚层区域变成前肠的后部前体细胞，将来形成胰腺、胆囊和肝。
3. 四对咽囊变成咽鼓管、扁桃体、胸腺及甲状旁腺的内胚层内衬。甲状腺也在这个内胚层的区域形成。
4. 肠组织通过内胚层和中胚层之间的相互作用而形成。来自中胚层的 Wnt 信号和来自内胚层的 Sonic hedgehog 信号在肠周围的中胚层中对诱导嵌套式的同源异形基因表达起作用。这个区域化的中胚层进而指令内胚层管形成消化管的不同器官。
5. 在肠的一些区域，干细胞的去除导致一些功能性细胞进行去分化而形成一个新的干细胞群体。
6. 肝的两种主要细胞类型是调节身体代谢的肝细胞，以及内衬胆管的胆管上皮细胞。
7. 内胚层帮助特化脏壁中胚层；脏壁中胚层，尤其是心脏和血管，帮助特化内胚层。
8. 胰腺在不表达 *Shh* 的一个区域形成。转录因子 Pdx1 和 Ptf1a 在这个区域表达。
9. 胰腺的内分泌细胞和外分泌细胞有一个共同的来源。转录因子 Ngn3 很可能决定内分泌命运。
10. 通过模仿胚胎发育的条件，人的诱导多能干细胞可以被转变成胰腺 β 细胞的前体，并产生分泌

胰岛素的细胞。

11. 呼吸管来自消化管的一个外鼓囊。它接触的间充质的区域特异性决定呼吸管保持笔直状态（如气管）或进行分支（如支气管和肺泡）。

拓展阅读

Clotman, F. and 7 others. 2005. Control of liver cell fate decision by a gradient of TGF-β signaling modulated by Onecut transcription factors. *Genes Dev.* 19: 1849–1854.

Fishman, M. P. and D. A. Melton. 2002. Pancreatic lineage analysis using a retroviral vector in embryonic mice demonstrates a common progenitor for endocrine and exocrine cells. *Int. J. Dev. Biol.* 46: 201–207.

Kim, B.-M., G. Buchner, I. Miletich, P. T. Sharpe and R. A. Shivdasani. 2005. The stomach mesenchymal transcription factor Barx1 specifies gastric epithelial identity through inhibition of transient Wnt signaling. *Dev. Cell* 8: 611–622.

Odom, D. T. and 12 others. 2004. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science* 303: 1378–1381.

Pagliuca, F. W. and 8 others. 2014. Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell* 159: 428–439.

Rezania, A. and 12 others. 2014. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nature Biotechnol.* 32: 1121–1133.

Viotti , M., S. Nowotschin and A. K. Hadjantonakis. 2014. Sox17 links gut endoderm morphogenesis and germ layer segregation. *Nature Cell Biol.* 16: 1146–1156.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 21 章

变态

发育中激素的重新活化

幼体的食物怎样帮助成体形式的生存？

在动物发育中只有很少的事件能像**变态**（**metamorphosis**）那样引人注目，因为这是发育现象中的激素重新活化，给予动物一个新的形态。幼体的体型较小、尚未性成熟，代表成体版本的动物（包括人）被称为**直接发育动物**（**direct developer**）。然而，大多数动物物种是**间接发育动物**（**indirect developer**），它们的生命周期包含一个幼体时期，与成体生物有显著差异的特征，而成体的特征只有经历一个变态时期后才出现。

变态既是发育也是生态的转变。通常，幼体形式专门用于某些功能，如生长或扩散，而成体专门用于繁殖。例如，大蚕蛾从卵中孵化出来后，在几个月内以无翅的幼态形式（即毛虫）进行发育。在变态后，这个成体昆虫会在大约仅仅一天内完全发育成一个具翅的蚕蛾，并且必须在死亡之前迅速完成交配。成体蚕蛾从不进食，实际上，在生命周期的这一短暂的生殖阶段，它们并没有口器。变态被一些特定的激素所启动，这些激素在整个生物体重新激活一些发育过程，改变其形态、生理和行为，为了以一种新的形式存在而做准备。从生态学的观点看，



要点

变态是一系列剧烈的发育变化，一个未成熟的生物体被赋予一种新的、通常是性成熟的形式。这些变化受潜在影响生物体内每一个细胞的内分泌因子（也就是激素）所启动。一些细胞在激素的影响下进行分裂，另一些细胞进行分化，还有一些发生凋亡。从幼体（毛虫、蝌蚪、长腕幼体）到成体的转变提供了一些快速发育变化的显著例子。在昆虫和两栖类，幼体的体轴变为成体的体轴，即便是形成这些体轴的细胞已经发生了变化。在海胆，幼体的任何体轴都没有被保留下来，这是因为成体形成于幼体肠道左侧的一个小囊。所有这三种类群的变态都是通过能够激活一些转录因子的脂类激素来实现的。

变态与栖息地、食物及行为的改变相关（Jacobs et al. 2006）。

间接发育动物有两种主要的幼体类型。形体构型与成体形式具有显著差异并且形态不同于成体的幼体称为**初级幼体**（**primary larva**）。例如，海胆的幼体是两侧对称的生物体，在海洋浮游生物中漂浮和采食。另一方面，海胆的成体呈五边形（也就是具有五边对称），以刮擦海底礁石上的藻类为食。在幼体的形体构型中没有任何成体形式的痕迹[1]。

次级幼体（**secondary larva**）见于一些幼体和成体具有相同基本形体构型的动物。因此，尽管毛虫和蝴蝶有明显的差异，但它们都在生命周期中保留相同的主要体轴，并通过去除和改变原来的部分，同时将一些新的结构添加到已有的躯体框架中进行发育。类似地，尽管蛙的蝌蚪只适应水生环境，但它也是一个与成体具有相同躯体图式的次级幼体（Jagersten 1972；Raff and Raff 2009）。

变态是最引人注目的发育现象之一，某些物种所经历的巨大形态变化在几个世纪以来一直使发育解剖学家陶醉（Merian 1705；Swammerdam 1737）。即便如此，我们对变态的分子基础只有一个初步的了解，并且仅限于少数物种。

21.1 两栖类的变态

两栖类事实上就是因为它们具有变态的能力而这样命名的。它们名字来自希腊语的“*amphi*”（“双重”）和“*bios*”（“生命”）。两栖类的变态涉及一些为水生生物以陆地存在为主而做准备的形态变化。在**有尾类**（**urodele**），如蝾螈，这些变化包括尾鳍的吸收、外鳃的破坏及皮肤结构的改变。在**无尾类**（**anuran**），如蛙和蟾蜍，这些变化更为剧烈，几乎涉及了每一个器官（**表 21.1**；也见图 1.3）。两栖类变态的变化被甲状腺激素启动，如**甲状腺素**（**thyroxine，T_4**）和**三碘甲腺原氨酸**（**tri-iodothyronine，T_3**），这些激素经由血液到达幼体的所有器官。当幼体的器官接触这些甲状腺激素时，它们能以四种方式予以应答：生长（如蛙的后肢）、死亡（如蛙的尾）、重塑（如蛙的肠）及重新特化（如蛙的肝特异酶）。

表 21.1　无尾两栖类的变态变化

系统	幼体	成体
运动系统	水生；尾鳍	陆生；无尾四足动物
呼吸系统	腮、皮肤、肺；幼体血红蛋白	皮肤、肺；成体血红蛋白
循环系统	主动脉弓；主动脉；前、后和颈总静脉	颈动脉弓；体动脉弓；主静脉
营养系统	草食性；长螺旋肠；肠共生生物；小嘴、角质颌、前牙	肉食性；短肠；蛋白酶、大嘴长舌
神经系统	无瞬膜；视紫质、侧线系统、莫特纳神经元	眼肌发育、瞬膜、鼓膜；视紫红质；侧线系统丢失、莫特纳神经元退化
排泄系统	氨为主，部分尿素（排氨代谢）	尿素为主；高活性的鸟氨酸 - 尿素循环酶（排尿代谢）
皮肤	薄且具有薄真皮的双层表皮；无黏液或颗粒腺	具有成体角蛋白的复层鳞状表皮；发育较好的真皮中含有分泌液和分泌抗菌肽的颗粒腺

来源：数据来自 Turner and Bagnara 1976 和 Reily et al. 1994。

21.1.1 两栖类变态的形态变化

新结构的生长　三碘甲腺原氨酸激素诱导一些成体特有器官的形成。如第 1 章所述，成体蛙的肢来自变态过程中的蝌蚪的特定位置。类似地，眼中的眼睑和瞬膜（蛙的所谓“第三眼睑”）也开始出现。而且，三碘甲腺原氨酸诱导神经元的增殖和分化，以支配这些器官。随着肢从体轴生长出来，新的神经元

---

[1] 在这个问题上尽管有所争议，但幼体很可能是在成体形式建立之后演变而来的。换句话说，动物通过直接发育而演变，幼体形式是为了在生命周期的早期阶段进行采食或扩散而产生的特化（Jenner 2000；Rouse 2000；Raff and Raff 2009）。即便如此，双相的生命周期可能是后生动物的一个特征（见 Degnan and Degnan 2010）。

在脊髓中增殖和分化。这些神经元将轴突延伸到新形成的肢肌肉组织（Marsh-Armstrong et al. 2004）。抑制三碘甲腺原氨酸的活性能阻止这些神经元的形成，并导致肢的瘫痪。

无尾类变态过程中一个较为容易观察到的结果是眼从它们最初的侧部位置移动到头的前部（图 21.1A，B）[2]。蝌蚪的侧眼是食草动物的典型特征，而位于前部的蛙眼则有利于食肉性的生活方式。为了捕捉猎物，蛙需要有三维视野。换言之，它必须获得双目视野，将双眼的输入信号在脑中汇聚（见图 15.38B）。在蝌蚪中，右眼支配脑的左侧，反之亦然；视网膜神经元不在同侧（相同一边）投射。然而，在变态过程中，同侧途径与对侧（相反的一侧）途径同时出现，使得来自双眼的输入传递到脑的相同区域（Currie and Cowan 1974；Hoskins and Grobstein 1985a）。

在非洲爪蛙，这些新途径并不是来源于已有神经元的重塑，而是来自新神经元的形成，它们在应答甲状腺激素时进行分化（Hoskins and Grobstein 1985a，b）。这些轴突进行同侧投射的能力是因为甲状腺激素在视交叉的位置对肝配蛋白 B 的诱导（Nakagawa et al. 2000）。肝配蛋白 B 同样见于哺乳动物（在整个生命中都具有同侧投射）的视交叉，但未见于鱼类和鸟类（仅有对侧投射）的视交叉。如第 15 章所述，肝配蛋白能排斥一些神经元，使它们仅向一个方向投射，而不是另一个方向（图 21.1C，D）。

变态过程中的细胞死亡　三碘甲腺原氨酸激素也诱导特定幼体结构的死亡。它能使桨状的尾和摄氧的腮发生退化，这两个组织对幼体（而不是成体）的运动和呼吸非常重要。虽然蝌蚪的尾部肌肉和皮肤很明显地经历了死亡，但这种死亡是谋杀还是诱导性自杀？换句话说，是三碘甲腺原氨酸让这些细胞自杀，还是三碘甲腺原氨酸通过其他方式杀死这些细胞？新近的证据表明，尾部吸收的第一步是细胞自杀，而蝌蚪尾部的最后剩余部分必须通过其他方式被杀死。如果在蝌蚪的肌肉细胞中注射显性失活的三碘甲腺原氨酸受体（因此这些细胞不能应答三碘甲腺原氨酸），这些肌肉细胞便能存活，说明是三碘甲腺原氨酸指使这些细胞通过细胞凋亡而自杀（Nakajima and Yaoita 2003；Nakajima et al. 2005）。抑制细胞凋亡诱导酶（胱天蛋白酶）的活性能够阻止蝌蚪肌肉细胞死亡，因此这个实验证实了上述结果（Rowe et al. 2005）。然而，在变态的后期，尾部的肌肉细胞被巨噬细胞吞噬，这可能是因为支持肌肉细胞的细胞外基质已经被蛋白酶消化。

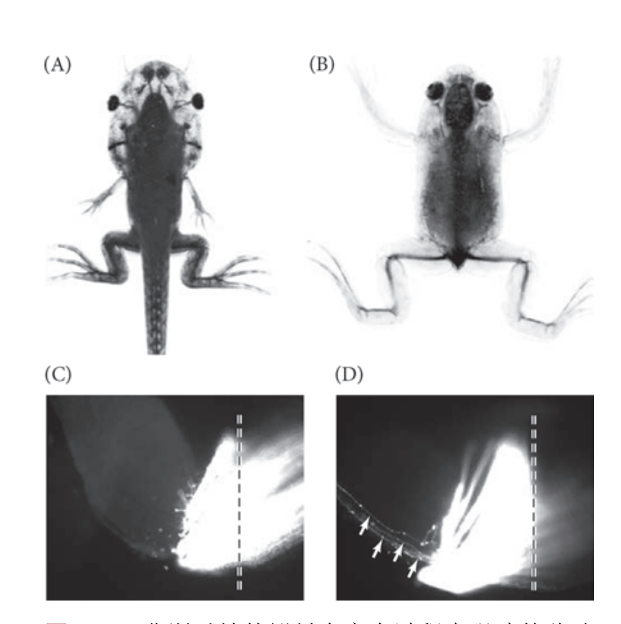


图 21.1　非洲爪蛙的蝌蚪在变态过程中眼睛的移动及相关的神经元变化。（A）蝌蚪的眼睛位于侧部，所以双目视野的范围相对较小。（B）眼在变态过程中向背部和前部移动，为成体蛙建立较大的双目视野。（C，D）变态中的蝌蚪的视网膜投射。将细胞膜红色荧光探针染料置于视神经的截断残端以标记视网膜投射。（C）在变态的早期和中期，轴突越过中线（虚线），从脑的一侧投射到另一侧。（D）在变态的后期，随着同侧投射神经元（箭所示）的形成，肝配蛋白 B 在视交叉表达（A 图和 B 图来自 Hoskins and Grobstein 1984，由 P. Grobstein 提供；C 图和 D 图来自 Nakagawa et al. 2000，由 C. E. Holt 提供）。

细胞死亡同样也涉及蝌蚪的血细胞。在变态过程中，蝌蚪的血红蛋白被成体的血红蛋白取代，成体血红蛋白与氧的结合较慢但能较快地将其释放（McCutcheon 1936；Riggs 1951）。携带蝌蚪血红蛋白的红细胞的形状不同于成体血细胞，在成体红细胞产生后，这些幼体红细胞在肝和脾中被巨噬细胞消化（Hasebe et al. 1999）。

变态过程中的重塑　在蛙和蟾蜍，一些幼体结构被重塑以适应成体的需要。为了消化植物性食物而具

[2] 变态过程中最引人注目的眼运动之一发生在鲆鲽鱼类，如比目鱼。最初，比目鱼的眼像其他鱼类物种的侧眼一样，位于面部的两侧。但是在变态过程中，一只眼迁移越过头部而与另一侧的眼相接触（Hashimoto et al. 2002；Bao et al. 2005）。这使得比目鱼蛰伏在海底，还能向上看。

> **袖珍指南**
> 关于两栖类变态的照片（以及成体蛙的声音），查看“两栖类”部分中的变态和青蛙叫声。

有大量盘绕的幼体肠被转变成适于肉食性食物的短肠。Schrieber 及其同事（2005）证实，成体肠的新细胞来自幼体肠的功能性细胞（而不存在一个产生成体肠的干细胞亚群）。随着旧肠的细胞外基质被分解，大部分肠上皮细胞死亡。那些存活下来的细胞似乎进行去分化而变成肠干细胞（Stolow and Shi 1995；Ishizuya-Oka et al. 2001；Fu et al. 2005；Hasabe et al. 2013）。

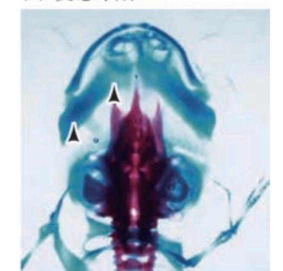
大部分神经系统在神经元生长和支配新靶点时被重塑。一些神经元（如视神经途径中的神经元）开始出现，而其他幼体神经元（如蝌蚪颌部的某些运动神经元）将它们的神经支配从幼体肌肉转换到成体肌肉（Alley and Barnes 1983）。还有一些神经元，如支配舌肌（新形成的肌细胞，不存在于幼体）的细胞，在蝌蚪时期处于休眠状态，但在变态过程中形成它们的首个突触（Grobstein 1987）。使蝌蚪能够感知水运动并能帮助它听声音的蝌蚪侧线系统退化，耳也经历进一步的分化（Fritzsch et al. 1988）。中耳及具有蛙和蟾蜍外耳特征的鼓膜发育出来[3]。因此，随着一些神经元的死亡，其他神经元形成，另外一些神经元改变它们的特异性，无尾类的神经系统经历了巨大的重建。

无尾类颅骨的形状也发生了显著变化，因为几乎每一个头部结构成分都被重塑（Trueb and Hanken 1992；Berry et al. 1998）。最明显的变化是新骨骼的形成。蝌蚪的颅骨主要是神经嵴来源的软骨；而成体的颅骨主要是神经嵴来源的骨骼（图 21.2；Gross and Hanken 2005）。随着成体下颌的形成，麦克尔软骨比其初始长度延伸了近两倍，而且在其周围形成了真皮骨骼。随着麦克尔软骨的生长，对蝌蚪在水中呼吸所需的鳃和咽弓软骨开始退化。其他软骨也被广泛重塑。因此，像神经系统一样，一些骨骼成分增殖，一些死亡，还有一些被重塑。目前关于一种激素在不同并且经常是邻近的组织中产生差异性作用的机制还不清楚。

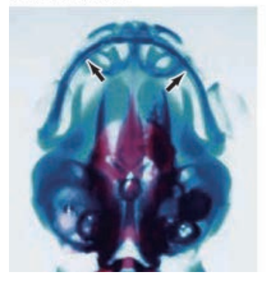
(A) 蝌蚪



(B) 变态早期



(C) 变态晚期



(D) 幼蛙

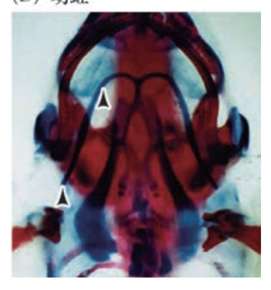


图 21.2 变态过程中非洲爪蛙颅骨的变化。阿尔新蓝整封染色显示软骨，西素红染色显示骨骼。(A) 在变态前，咽（腮）弓软骨（空心箭头）很明显，麦克尔软骨（箭所示）位于头部顶端，角舌软骨（黑色箭头）相对较宽并位于前端。(B ～ D) 随着变态的进行，咽弓软骨消失，麦克尔软骨延长，下颌（下颌骨）在麦克尔软骨周围形成，角舌骨变窄并位于更后端（来自 Berry et al. 1998，由 D. D. Brown 提供）。

肝中的生化性重新特化 除了明显的形态变化以外，随着三碘甲腺原氨酸诱导已有的细胞表达一组新的蛋白质，变态过程中还发生了重要的生化转变。最显著的生化变化之一发生在肝中。与大多数淡水鱼类一样，蝌蚪进行排氨代谢，即它们排出氨。但是，像大多数陆生脊椎动物那样，很多成体蛙（如豹蛙属，但不是更偏向水生的非洲爪蛙）进行排尿素代谢而排出尿素，这比排氨需要更少的水。在变态过程中，肝开始合成一些从二氧化碳和氨产生尿素所需的酶（图 21.3）。

三碘甲腺原氨酸可能通过诱导一组转录因子来调节这个变化，这些转录因子特异地激活尿素循环基因的表达，同时抑制参与氨合成的基因（Cohen 1970；Atkinson et al，1996，1998）。Mukhi 及其同事（2010）发现，三碘甲腺原氨酸激活成体的肝基因，同时在相同的细胞内抑制幼体的肝基因。此外，在变态过程的一个短暂时间内，相同的肝细胞内同时含有幼体和成体蛋白的 mRNA。

21.1.2 两栖类变态的激素控制

甲状腺激素对变态的控制在 1912 年被 J. F. Gudernatsch 首次证明，他发现蝌蚪被喂以马的甲状腺粉

---

[3] 蝌蚪在神经元改变靶点时会经历一个短暂的耳聋时期；见 Boatright-Horowitz and Simmons 1997。

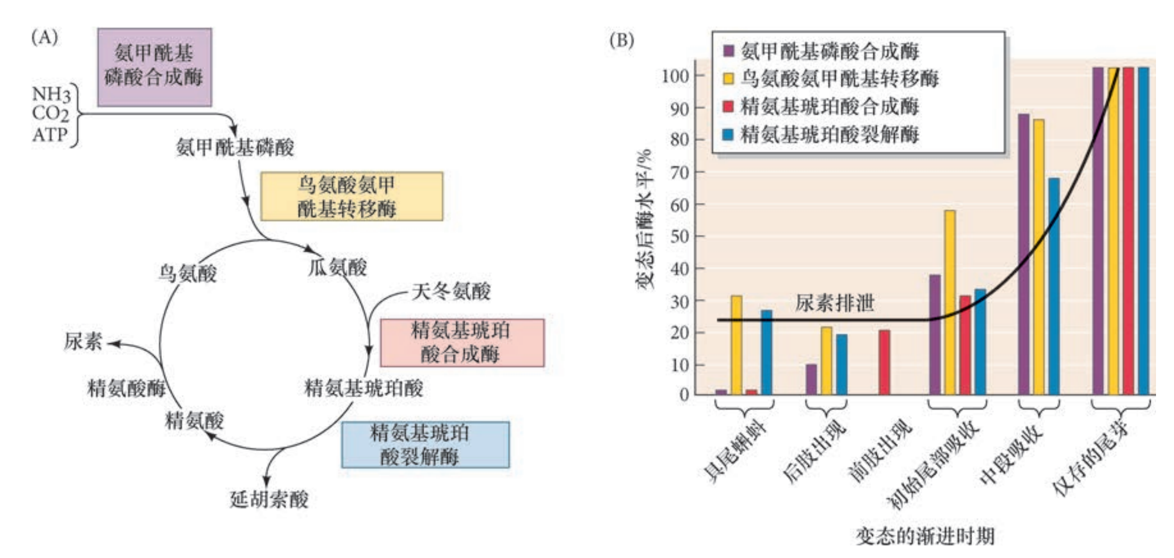


图 21.3　无尾类变态过程中尿素循环的发育。(A) 尿素循环的主要特征，这个循环使氮废弃物在失水最少的情况下被解毒和排泄。(B) 在豹蛙 (*Rana catesbeiana*)，尿素循环酶活性的出现与变态的变化相关（参考 Cohen 1970）。

观察发育 21.1　延时视频使我们能够观察蛙和比目鱼的变态。

时会提前变态。在一个互补性研究中，Bennent Allen (1916) 发现，当他去除或破坏早期蝌蚪的甲状腺原基时，幼体一直不变态，但却变成了巨型的蝌蚪。后续的研究表明，无尾类变态的顺序性阶段受剂量不断增高的甲状腺激素调节（见 Saxen et al. 1957；Kollros 1961；Hanken and Hall 1988）。一些事件（如肢的发育）发生的较早，此时甲状腺激素的浓度较低；其他一些事件（如尾的吸收和肠的重塑）发生的较晚，在激素达到更高浓度之后。这些观察使人们提出了一个**阈值模型** (**threshold model**)，认为变态的不同事件由不同浓度的甲状腺激素所启动。虽然这个阈值模型仍然有效，但分子研究表明，两栖类变态事件发生的时间更为复杂，不仅仅是激素浓度的升高。

蛙发育的变态变化通过以下方式产生：①甲状腺将甲状腺素 (T_4) 分泌到血液；②靶组织将甲状腺素转化成活性更高的激素，即三碘甲腺原氨酸 (T_3)；③三碘甲腺原氨酸在靶组织中被降解（图 21.4）。进入细胞后，三碘甲腺原氨酸结合细胞核**甲状腺激素受体** (**thyroid hormone receptor，TR**) 的亲和力比甲状腺素更高，它使这些转录因子变成基因表达的转录激活物。因此，靶组织中三碘甲腺原氨酸和甲状腺激素受体的水平对每个组织产生变态应答至关重要 (Kistler et al. 1977；Robinson et al. 1977；Becker et al. 1997)。

三碘甲腺原氨酸在每个组织中的浓度受血液中甲状腺素浓度和两个关键的胞内酶所调节，这两个酶去除三碘甲腺原氨酸和甲状腺素的碘原子。**II 型脱碘酶** (**type II deiodinase**) 从前体激素 (T_4) 的外环去除碘原子，将其转化为更具活性的激素——三碘甲腺原氨酸。**III 型脱碘酶** (**type III deiodinase**) 从三碘甲腺原氨酸的内环去除碘原子，将其转化为无活性化合物 (T_2)，最终被代谢成酪氨酸 (Becker et al. 1997)。在转基因蝌蚪的靶组织中过表达 III 型脱碘酶使它们完全不能变态 (Huang et al. 1999)；因此，变态的调节涉及最有效结合其受体的激素形式的组织特异性调节。

甲状腺激素受体是一些核蛋白，并且有两种主要类型。在非洲爪蛙，**甲状腺激素受体 -α** (**thyroid hormone receptor α，TRα**) 广泛分布在所有组织，甚至在生物体具有甲状腺之前就已经存在。在一个正反馈环中，编码**甲状腺激素受体 -β** (**thyroid hormone receptor β，TRβ**) 的基因本身直接被甲状腺激素激活。在变态起始之前，甲状腺激素受体 -β 的水平很低；随着变态过程中甲状腺激素水平的升高，细胞内甲状腺激素受体 -β 的水平也相应升高（图 21.5；Yaoita and Brown 1990；Eliceiri and Brown 1994）。我们将会看到，激素受体基因的表达受其自身基因产物的正调节，在整个动物分类单元中是变态的一个普遍特征。

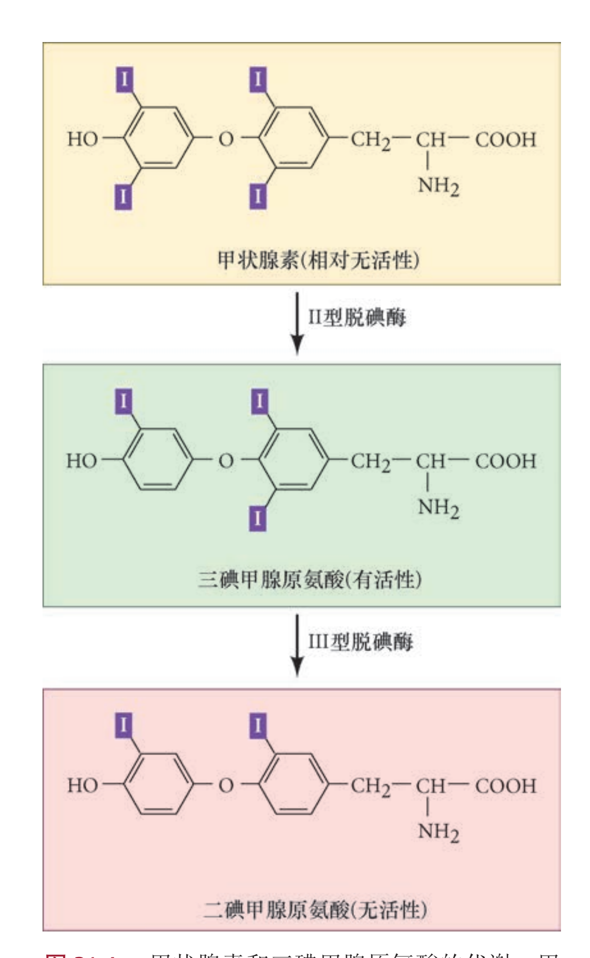


图 21.4 甲状腺素和三碘甲腺原氨酸的代谢。甲状腺素是一个激素原，它在周围组织中被 II 型脱碘酶转变成有活性的激素——三碘甲腺原氨酸。三碘甲腺原氨酸能被 III 型脱碘酶失活，这个酶将三碘甲腺原氨酸转变成不能诱导变态的二碘甲腺原氨酸。

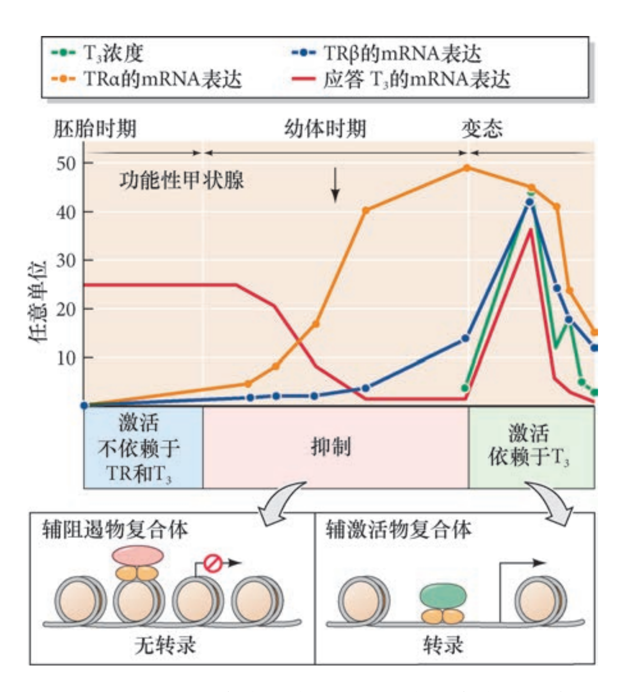


图 21.5 非洲爪蛙变态的激素调控。在预变态过程中，甲状腺激素的滴定度很低，未被配体结合的甲状腺激素受体 -α(TRα) 与染色质结合，并固定那些稳定核小体的转录阻遏物。在变态高峰过程中，甲状腺激素在血液中的水平升高，甲状腺激素受体 -α 结合甲状腺素 (T_4)。这使转录阻遏物被转变成转录激活物。核小体解散，三碘甲腺原氨酸 (T_3) 敏感基因被激活。这些基因之一编码甲状腺激素受体 -β(TRβ)，它进一步加速变态应答。最终，反馈抑制降低循环中的甲状腺激素，变态结束（参考 Grimaldi 2013）。

甲状腺激素受体 (TR) 不是独立发挥作用，而是与类视黄醇受体 RXR 形成二聚体。TR-RXR 二聚体结合甲状腺激素后能够上调基因的转录 (Mangelsdorf and Evans 1995；Wong and Shi 1995；Wolffe and Shi 1999)。重要的是，TR-RXR 受体复合物在结合三碘甲腺原氨酸之前就物理性地连接在一些特定的启动子和增强子上 (Grimaldi et al. 2012)。在没有激素结合的状态下，TR-RXR 是一个转录阻遏物，将组蛋白脱乙酰酶及其他辅阻遏物蛋白招募到它的靶基因，并在启动子周围稳定抑制性的核小体。然而，当 TR-RXR 复合物结合三碘甲腺原氨酸时，阻遏物离开受体复合物，并被辅激活物（如组蛋白乙酰转移酶）所取代。这些辅激活物导致核小体的分散，以及之前被抑制的相同基因的激活 (Sachs et al. 2001；Buchholz et al. 2003；Grimaldi et al. 2013)。因此，甲状腺激素受体具有双重作用：未被配体结合时，它们抑制基因表达，防止早期变态；被三碘甲腺原氨酸结合时，它们激活这些相同基因的表达（见图 21.5）。

根据血液中甲状腺激素的浓度，变态通常被分为几个时期。在第一个时期，即**预变态** (**pre-metamorphosis**)，甲状腺已经开始成熟，并分泌低水平的甲状腺素和非常低水平的三碘甲腺原氨酸，甲状腺激素受体 -α 表达但甲状腺激素受体 -β 还没有表达。甲状腺素的分泌可能被促肾上腺皮质素释放素启动，这个激素能被发育或外部压力所激活。促肾上腺皮质素释放素产生一些类固醇，如皮质酮。皮质酮很可能有两种作用方式 (Kulkarni and Bucholz 2014)。首先，它直接作用于蛙的垂体，指令垂体释放促

甲状腺激素，从而启动甲状腺激素的合成。其次，它可以作用于激素应答基因的启动子和增强子，使应答细胞对低剂量三碘甲腺原氨酸的反应更敏感（Denver 1993，2003）。

最早应答甲状腺激素的组织是那些表达高水平 II 型脱碘酶的组织，从而能将甲状腺素（T_4）直接转化为三碘甲腺原氨酸（Cai and Brown 2004）。例如，表达高水平的 II 型脱碘酶和甲状腺激素受体 -α 的肢原基能将甲状腺素转化为三碘甲腺原氨酸，并通过受体立即使用三碘甲腺原氨酸。因此，在早期的变态过程中，肢原基能够接收甲状腺激素，并利用它来起始腿的生长（Becker et al. 1997；Huang et al. 2001；Schreiber et al. 2001）。

随着甲状腺在**前变态**（**prometamorphosis**）期的成熟，它分泌更多的激素。然而，许多主要的变化（如尾部吸收、鳃吸收和肠重塑）必须等到**变态高峰**（**metamorphic climax**）期。这时，细胞内甲状腺素的浓度显著上升，甲状腺激素受体 -β 达到峰值。因为三碘甲腺原氨酸的靶点之一是甲状腺激素受体 -β 的基因，甲状腺激素受体 -β 有可能是介导变态高峰的主要受体。在尾部，预变态过程中仅有少量的甲状腺激素受体 -α，并且检测不到 II 型脱碘酶。然而，在前变态过程中，甲状腺激素水平的升高诱导更高水平的甲状腺激素受体 -β 的表达。在变态高峰期，II 型脱碘酶开始表达，尾部开始被吸收。通过这种方式，尾部只有在腿具有功能之后才开始被吸收（否则这个可怜的蛙将无法运动）。青蛙的智慧很简单：“在你的腿能运动之前千万别丢弃你的尾巴”。

有些组织似乎对甲状腺激素不产生应答。例如，甲状腺激素指令腹侧视网膜表达肝配蛋白 B，并产生图 21.1D 所示的同侧投射神经元。但是，背侧视网膜对甲状腺激素不产生应答，也不产生新的神经元。背侧视网膜似乎通过表达 III 型脱碘酶而对甲状腺激素绝缘，这个酶降解 II 型脱碘酶产生的三碘甲腺原氨酸。如果在腹侧视网膜激活 III 型脱碘酶，神经元将不会增殖，也不会形成同侧投射的轴突（Kawahara et al. 1999；Marsh-Armstrong et al. 1999）。

蛙脑在变态过程中也经历了变化，这些变化的功能之一就是在达到变态高峰后下调变态。甲状腺激素最终诱导一个负反馈环，关闭垂体细胞对甲状腺释放甲状腺激素的指令（Saxén et al. 1957；Kollros 1961；White and Nicoll 1981）。Huang 及其同事（2001）证明，在变态高峰期，II 型脱碘酶表达在那些分泌促甲状腺素的前垂体细胞，而促甲状腺素能激活甲状腺激素的表达。这样产生的三碘甲腺原氨酸被认为能激活那些阻断促甲状腺素分泌的基因，从而起始一个负反馈环，因此减少甲状腺激素的产生（Sternberg et al. 2011）。

网络话题 21.1　**两栖类变态主题的变异**　直接发育和幼型是改变生命周期的两栖类发育的主题。

21.1.3　区域性特异的发育程序

通过调节细胞内三碘甲腺原氨酸和甲状腺激素受体的水平，蝌蚪身体的不同区域能在不同的时间对甲状腺激素产生应答。这些应答的类型（增殖、凋亡、分化、迁移）受已经存在于不同组织中的其他因素所决定。相同的刺激物引起一些组织退化，同时刺激其他组织进行发育和分化。例如，尾部退化的过程是：甲状腺激素指令肢芽肌肉生长（它们在没有甲状腺素的情况下死亡），同时指令尾部肌肉经历细胞凋亡（Cai et al. 2007）。

尾部结构的吸收相对较快，因为骨骼没有延伸到这个区域（Wassersug 1989）。细胞凋亡发生后，巨噬细胞在尾部聚集并以自身的酶（特别是胶原蛋白酶和金属蛋白酶）消化组织碎片，使尾部变成一个大的蛋白水解酶囊[4]（Kaltenbach et al. 1979；Oofusa and Yoshizato 1991；Patterson et al. 1995）。尾部表皮的行为有别于头部和躯干的表皮。在变态高峰期，幼体的皮肤被指令进行细胞凋亡。蝌蚪的头部和身体能利用

[4] 有趣的是，人类尾部的退化（发生在妊娠的第 4 周）与蝌蚪的尾部吸收很相似（见 Fallon and Simandl 1978）。

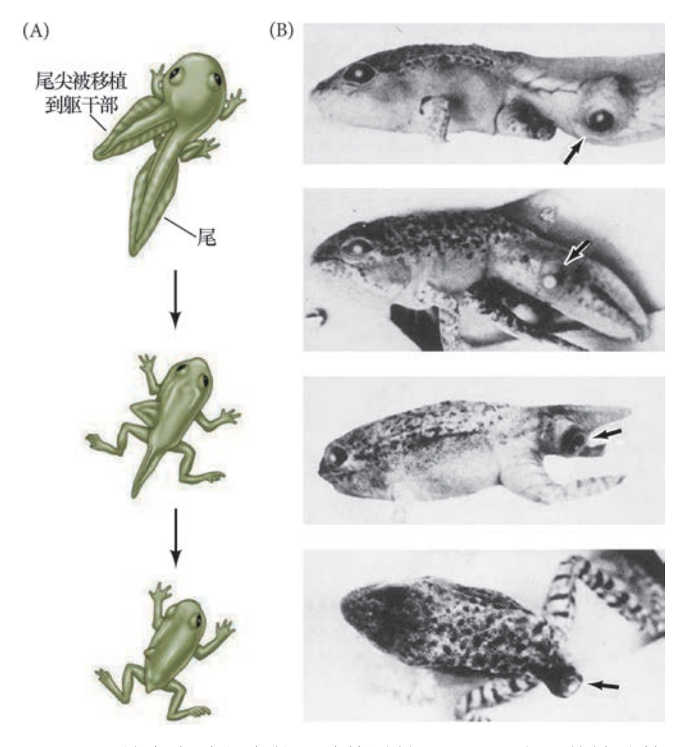


图 21.6 蛙变态过程中的区域特异性。(A) 尾尖即使被移植到躯干也会退化。(B) 视杯即使被移植到退化中的尾部也保持完整（参考 Schwind 1933）。

上皮性干细胞产生新的表皮。但是，尾部的表皮缺乏这些干细胞，因此不能产生新皮肤（Suzuki et al. 2002）。

将一个尾尖移植到躯干及将一个视杯置入尾部，这些实验显著地证明了甲状腺激素的器官特异性应答（Schwind 1933；Geigy 1941）。置入躯干的尾尖组织没有被阻止退化，但视杯却保持完整，即便是它处在正在退化的尾部（图 21.6）。因此，一个组织应答甲状腺激素的方式是这个组织自身的内在特性。这不依赖于它在幼体中的位置。

蝌蚪变态成为蛙是最迅速和最易观察的发育例子之一，即便是在儿童的眼里这也很明显。然而，它却呈现出一系列重大的谜团。像 Don Brown 和 Liquan Cai（2007）提问的那样：“是什么在鼓励现代科学家去研究两栖类变态所呈现出的奇妙生物学问题”？最近的工作证明了变态对研究再生的重要性，它也是发育和生态学互相产生显著影响的一个关键领域。

21.2 昆虫的变态

昆虫在地球的动物中所占的物种最多，它们生命周期的多样性就连科幻小说都相形见绌。昆虫发育有三种主要的图式。一小部分昆虫（如跳虫）没有幼体期，它们经历直接或**非变态**（**ametabolous**）发育（图 21.7A）。在孵化后不久，非变态昆虫有一个**预若虫**（**pronymph**）期，携带一些能使它脱离卵的结构。但在这个过渡期之后，昆虫很像一个小成体；它在每次换羽之后具有一个新的外皮，长得更大，但是形态保持不变（Truman and Riddiford 1999）。

其他昆虫（尤其是蚱蜢和臭虫）经历一个逐渐或**半变态**（**hemimetabolous**）的变态时期（图 21.7B）。在以预若虫（其外皮通常在昆虫孵化时脱落）的形式渡过一个短暂的时期后，这个昆虫很像一个未成熟的成体，称为**若虫**（**nymph**）。翅、生殖器官及其他成体结构的原基都已经存在，并且在每一次换羽之后逐渐变得更加成熟。在最后一次换羽之后，新产生的昆虫是一个具有翅和性成熟的成体，或**成虫**（**imago**）。

完全变态（**holometabolous**）发育的昆虫（如蝇、甲壳虫、飞蛾和蝴蝶等）没有预若虫时期（图 21.7C）。从卵中孵化出来的幼态形式称为**幼体**（**larva**）。这些幼体（如毛虫、幼虫或蛆）在变得更大时经历一系列换羽。这些幼体换羽之间的时期称为**龄**（**instar**）。在变为成体之前，幼体换羽的次数是一个物种的特征，尽管环境因素会增加或者减少换羽的次数。幼体循序渐进地生长，每一龄都比前一龄大。最后，幼体到成体期之间有一个剧烈和急剧的转变：在最后一龄之后，幼体经过**变态换羽**（**metamorphic molt**），变成一个**蛹**（**pupa**）。这个蛹不进食，它的能量必须来自幼体时期摄取的食物。成体结构在蛹化过程中形成并取代幼体结构。最终，一次**成虫换羽**（**imaginal molt**）在蛹的外皮下形成了成体（成虫）的外皮，然后成体在成体羽化时破蛹壳而出。虽然幼体被称为是孵化自一个卵，但成体则被称为是羽化自蛹。Carroll Williams（1958）将完全变态描述为觅食和繁殖之间的转换：“地缚的早期构建了巨大的消化道，并把它们在履带（毛虫状）胎上来回拖曳。在生命史的后期，这些资产可以被清算并被重新投资到一个全新生物体的构建之中，即一个致力于繁殖的飞行器”。

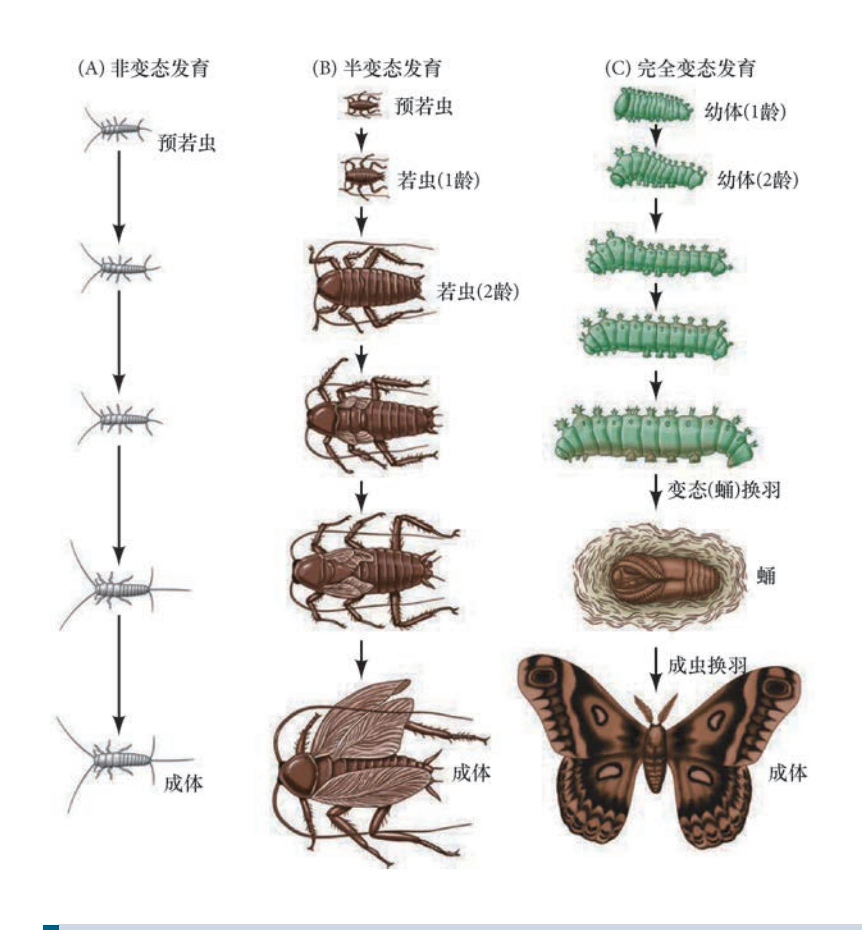


图 21.7　昆虫发育的方式。换羽用箭指示。(A) 衣鱼虫的非变态（直接）发育。在一个短暂的预若虫期后，这个昆虫看上去像一个小成体。(B) 蟑螂的半（逐渐）变态。在一个非常短暂的预若虫阶段后，这个昆虫变成一个若虫。每一次换羽之后，下一个若虫龄更像一个成体，逐渐长出翅和生殖器官。(C) 飞蛾的完全变态。作为幼体孵化出来后，这个昆虫经历逐次的幼体换羽，直到一次变态换羽使它进入蛹期。然后一次成虫换羽将它转变成一个成体，携带一个新外皮从蛹壳中羽化出来。

观察发育 21.2　两个不同寻常的延时视频描述帝王蝶和蜜蜂的发育及变态。

21.2.1　成虫盘（器官芽）

在完全变态的昆虫中，幼态向成体的转变发生在蛹的外皮。大部分幼体结构都通过程序性细胞死亡被系统地破坏，而新的成体器官从相对未分化的**成虫细胞**（**imaginal cell**）巢中发育而来。因此，任何幼体内都有两种不同的细胞群体：幼体细胞，用于幼态昆虫的功能；几千个成虫细胞，成簇地分布在幼体内，等待分化的信号。

有三种主要类型的成虫细胞（图 21.8）。

1. 产生成体外皮结构的**成虫盘**（**imaginal disc**）细胞，包括翅、腿、触角、眼、头、胸和外生殖器。
2. **成组织细胞**（**histoblast**）是将要产生成体腹部的成虫细胞。
3. 每个器官内都有成虫细胞簇，随着幼体器官的退化，它们增殖产生成体器官。

在新孵化的幼体，成虫盘作为表皮的局部增厚而显示出来。早期果蝇幼体的每个成虫盘有 10 ～ 50 个细胞，共有 19 个这样的成虫盘。头、胸和肢的表皮来自 9 对双侧的成虫盘，而外生殖器的表皮来自一个位于中线的成虫盘。

尽管大多数幼体细胞只具备很有限的有丝分裂能力，但成虫盘在特定的特征性时间能迅速分裂。随着细胞的增殖，成虫盘形成一个管状上皮，自身折叠成一个紧密的螺旋（图 21.9A）。在变态时，这些细胞在分化和延伸时甚至进一步增殖（图 21.9B）。果蝇的 6 个腿成虫盘之一的命运图谱和延伸次序可见于图 21.10。在第 3 龄结束时，蛹化之前的腿成虫盘是被一个细茎连接到幼体表皮的上皮囊。在这个囊的一侧，上皮缠绕成一系列同心褶，很像“丹麦酥皮饼”（Kalm et al. 1995）。在蛹化开始时，成虫盘中心的细胞向外延伸，变成腿的最远端部分，即爪和跗节。外层细胞变成近端结构，即基节和邻近的表皮（Schubiger

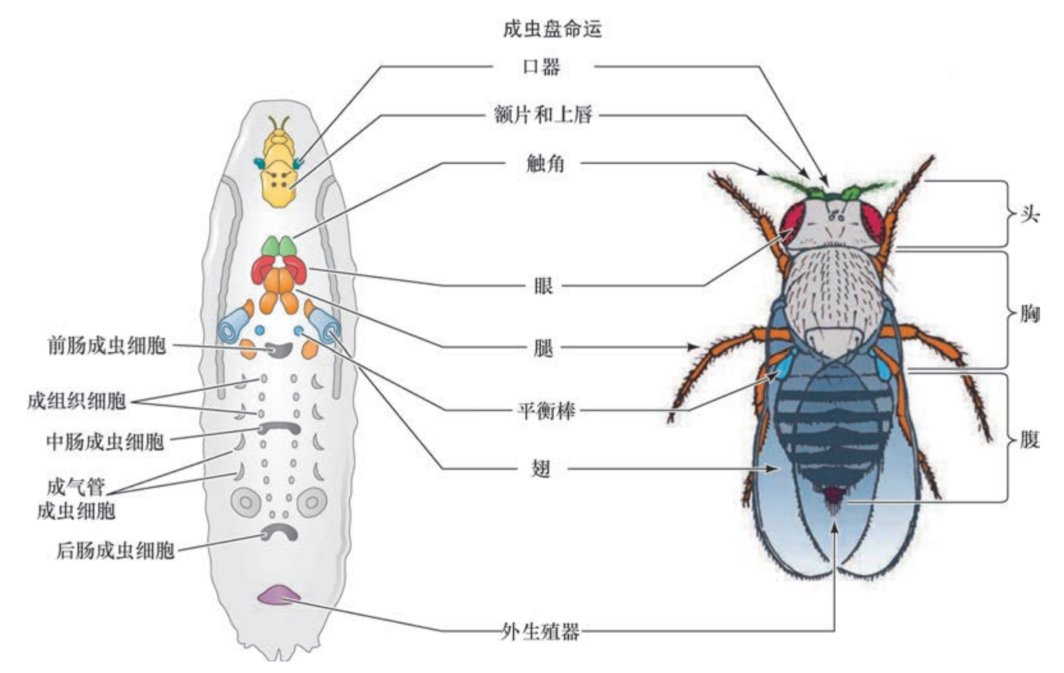


图 21.8 黑腹果蝇第 3 龄幼体（左侧）的成虫盘和成虫组织的位置及发育命运（参考 Kalm et al. 1995）。





图 21.9 成虫盘的延伸。果蝇第 3 龄的腿成虫盘在延伸前（A）和延伸后（B）的扫描电子显微镜照片（来自 Fristrom et al. 1977；由 D. Fristrom 提供）。

1968）。在分化时，附肢和表皮的细胞分泌一个适合每个特定区域的外皮。尽管成虫盘主要由表皮细胞组成，但是少量的**近上皮细胞**（**adepithelial cell**）在早期发育中迁移到成虫盘。在蛹期，这些细胞产生腿的肌肉和神经。

特化和增殖 总体细胞命运的特化（例如，一个成虫盘被特化为腿成虫盘而不是翅成虫盘）发生在胚胎中，并且主要由同源异形基因（如超级双胸和触足）介导。随着细胞的增殖，越来越特异的细胞命运在幼体期被特化（Kalm et al. 1995）。腿结构的类型（爪和股节等）受成虫盘中多个基因的相互作用所决定。图 21.11 中显示参与调控果蝇腿近 - 远轴的三个基因的表达。在第 3 龄的腿成虫盘，中央的细胞分泌高浓度的两个形态发生素，即 Wingless（Wg，Wnt 家族的一个旁分泌因子）和 Decapentaplegic（Dpp，骨形态发生蛋白家族的一个旁分泌因子）。这些旁分泌因子在高浓度时诱导 *Distal-less* 基因的表达。中等浓度诱导 *dachshund* 基因的表达，而较低浓度诱导 *homothorax* 基因的表达。

表达 *Distal-less* 的细胞向外延伸变成腿的最远端结构——爪和远端跗骨节。表达 *homothorax* 的细胞变成最近端的结构——基节。表达 *dachshund* 基因的细胞变成股节和近端胫节。转录因子表达重叠的区域形成转节和远端胫节（Abu-Shaar and Mann 1998）。这些基因的表达区域被这些基因及邻近基因的蛋白质产物之间的抑制性相互作用所稳定。通过这种方式，Wg 和 Dpp 蛋白的梯度被转变成基因表达的离散区域，特化果蝇腿的不同区域。

外翻和分化 果蝇第 3 龄的成熟腿成虫盘看起来不像成体的任何结构。它已经被决定但还没有分化；它的分化需要来自“换羽”激素 20- 羟基蜕皮激素（20E）以一组脉冲的形式所产生的一个信号（见图 21.12A）。第一个脉冲发生在幼体的晚期，它起始蛹的形成、停止成虫盘的细胞分裂并启动导致腿外

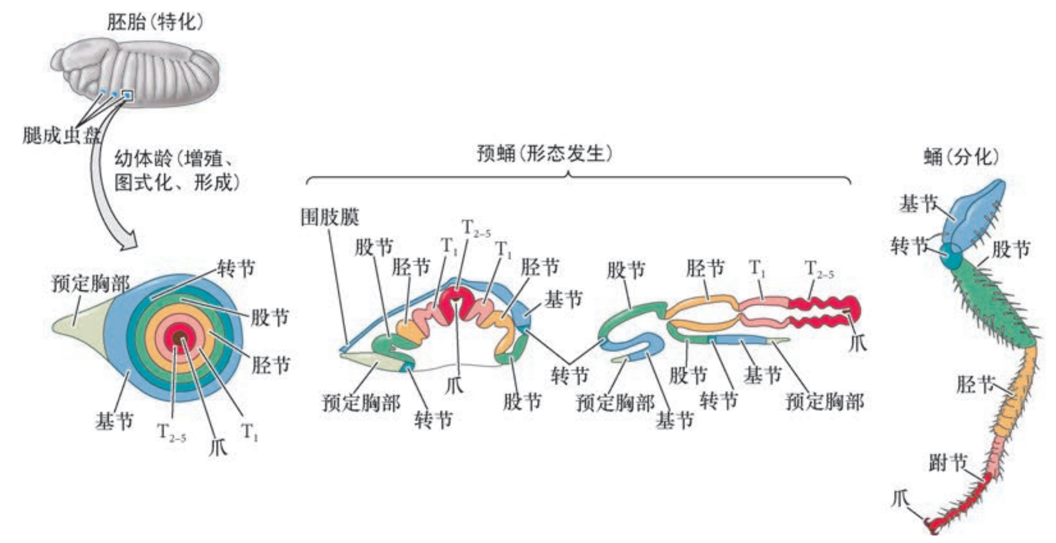


图 21.10　果蝇腿成虫盘发育的次序。成虫盘类型的特化发生在胚胎内部。成虫盘细胞的增殖及每个成虫盘将要产生的腿细胞类型的特化在幼体时期完成。成虫盘的延伸发生在早期的蛹（“预蛹”）期，腿组织在昆虫已经成为蛹时开始分化。T_1：基跗节；T_{2-5}：跗骨节（参考 Fristrom and Fristrom 1975；Kalm et al. 1995）。

翻的细胞形状变化。成虫盘的延伸在很大程度上是因为成虫盘上皮细胞的形状变化，辅以细胞分裂（Condic et al. 1991；Taylor et al. 2008）。Condic 及其同事用荧光标记的鬼笔环肽染色腿成虫盘细胞的外围微丝，结果显示，第 3 龄早期的成虫盘细胞沿近 - 远轴紧密排列。在给予分化的激素信号时，细胞改变它们的形状，腿外翻，成虫盘中央的细胞变成肢的最远端（爪）细胞。腿的结构将在蛹内进行分化，因此成体果蝇羽化时已经完全成形并具有功能：它们实际上是利用自己的腿最终摆脱了蛹壳。

网络话题 21.2　**昆虫的变态**　这个网络话题中的三个链接讨论：① Wigglesworth 以及他人鉴定变态的激素和产生这些激素的腺体的实验；②果蝇及其他昆虫的差异对变态主题的作用；③变态过程中昆虫神经系统的重塑。

网络话题 21.3　**寄生蜂的发育**　寄生蜂使达尔文相信上帝不可能既仁慈又无所不能。捕食性昆虫的生命周期是一个物种利用另一个物种的发育为自身提供益处的有趣例子。

拓展性问题

如何通过改变昆虫的变态来控制疟疾等疾病？

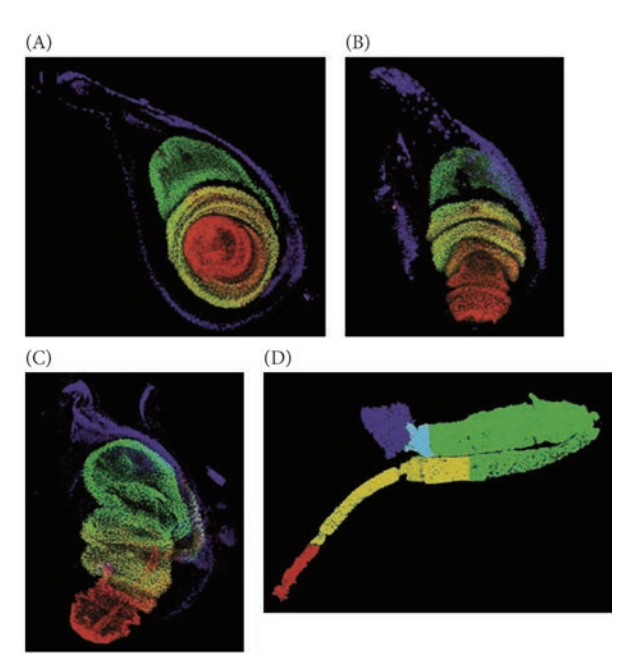


图 21.11　果蝇腿成虫盘中转录因子基因的表达。在外周，*homothorax* 基因（紫色）建立基节的边界。*Dachshund* 基因（绿色）的表达位于股节和近端胫节。最远端结构——爪和远端跗骨节，来自成虫盘中央 *Distal-less* 基因（红色）的表达区域。*Dachshund* 和 *Distal-less* 基因表达的重叠区域呈黄色，特化远端胫节和转节。(A ～ C) 蛹发育后期的基因表达。(D) 即将羽化前，基因表达区域在腿部的定位。表达区域之间呈现重叠的位置以黄色、浅绿色和橙色显示（来自 Abu-Shaar and Mann 1998，由 R. S. Mann 提供）。

21.2.2 昆虫变态的激素调控

尽管昆虫变态的细节在物种之间存在差异，但激素作用的整体图式却非常相似。像两栖类的变态一样，昆虫的变态受系统性的激素信号调节，这些激素又受到脑的神经激素所调节（Gilbert and Goodman 1981；Riddiford 1996）。昆虫的换羽和变态受类固醇**20- 羟基蜕皮激素**（**20-hydroxyecdysone，20E**）和脂质**保幼激素**（**juvenile hormone，JH**）这两种效应物激素的控制（图 21.12A）。20- 羟基蜕皮激素启动和协调每一次换羽（不管是幼体到幼体、幼体到蛹，还是蛹到成体），并且调节变态过程中发生的基因表达变化。高水平的保幼激素阻止蜕皮素诱导的变态所需的基因表达变化。因此，保幼激素在幼体换羽过程中能保证换羽的结果是另一个幼体龄，而不是一个蛹或一个成体。

换羽过程起始于脑，其中的神经分泌细胞在应答神经、激素或环境信号时将**促前胸腺激素**（**prothoracicotropic hormone，PTTH**）释放出来（图 21.12B）。促前胸腺激素是一种相对分子质量约为 40 000 的肽激素，它在**前胸腺**（**prothoracic gland**）激活受体酪氨酸激酶途径（Rewitz et al. 2009；Ou et al. 2011），刺激这些细胞产生**蜕皮素**（**ecdysone**）。蜕皮素在外周组织中被修饰成具有活性的换羽激素——20- 羟基蜕皮激素。每次换羽被一个或多个 20- 羟基蜕皮激素的脉冲所启动。对于幼体换羽，第一个脉冲在幼体血淋巴（血液）中使 20- 羟基蜕皮激素的浓度小幅度上升，并在表皮中触发细胞定型的变化。第二个更大的 20- 羟基蜕皮激素脉冲启动换羽相关的分化事件。20- 羟基蜕皮激素的这些脉冲定型和刺激表皮细胞合成一些消化旧外皮并合成新表皮的酶。

幼体至幼体的换羽在保幼激素有较大的循环滴定度时产生。保幼激素由**咽侧体**（**corpora allata**）分泌。咽侧体的分泌细胞在幼体换羽过程中具有活性，但在变态换羽和成虫换羽过程中失去活性。只要保幼激素存在，20- 羟基蜕皮激素刺激的换羽就只能产生一个新的幼体龄。然而，在最后一个幼体龄，来自脑至咽侧体的内侧神经抑制这些腺体产生保幼激素，并且体内降解已有保幼激素的能力也同时升高（Safranek and Williams 1989）。这两种机制都会使保幼激素的水平降低到临界阈值以下，从而触发促前胸腺激素从脑的释放（Nijhout and Williams 1974；Rountree and Bollenbacher 1986）。促前胸腺激素反过来刺激前胸腺分泌少量的蜕皮素。在没有高水平保幼激素的情况下，20- 羟基蜕皮激素使表皮细胞向蛹的发育定型。幼体特异性 mRNA 没有被替换，但新的 mRNA 被合成，它们的蛋白质产物抑制幼体 mRNA 的转录。

在果蝇变态过程中，20- 羟基蜕皮激素产生两个主要的脉冲。第一个脉冲出现在第 3 龄幼体，触发腿和翅成虫盘的“预蛹”形态发生，以及幼体后肠的死亡。幼体停止进食并进行迁移，以寻找开始蛹化的地点。第二个脉冲发生在 10 ～ 12 h 之后，指令预蛹变成蛹。这时头部反转，唾液腺退化（Riddiford 1982；Nijhout 1994）。因此，20- 羟基蜕皮激素在最后一个幼体龄的第一个脉冲似乎触发了一些失活幼体特异性基因和启动成虫盘结构形态发生的过程。第二个脉冲转录蛹特异性基因并启动换羽（Nijhout 1994）。在成虫换羽时，20- 羟基蜕皮激素在没有保幼激素的情况下发挥作用，成虫盘完全分化，这次换羽产生一个成体。

> **观察发育 21.3** 保幼激素是一种多用途的激素，既能调控变态，也能作为一种强效杀虫剂。

21.2.3 20- 羟基蜕皮激素活性的分子生物学

蜕皮素受体 与两栖类的甲状腺激素类似，20- 羟基蜕皮激素自身不能结合 DNA。它必须首先结合一个核蛋白，称为**蜕皮素受体**（**ecdysone receptor，EcR**）。蜕皮素受体在进化上与两栖类的甲状腺激素受体相关，并且在结构上也几乎相同。蜕皮素受体蛋白与 Ultraspiracle（Usp）蛋白二聚化后形成一个活性分子。Usp 是两栖类中类视黄醇受体 RXR 的同源物，我们在前面已经知道它与甲状腺激素受体形成二聚体，从而形成具有活性的甲状腺激素受体（Koelle et al. 1991；Yao et al. 1992；Thomas et al. 1993）。因此，蜕皮

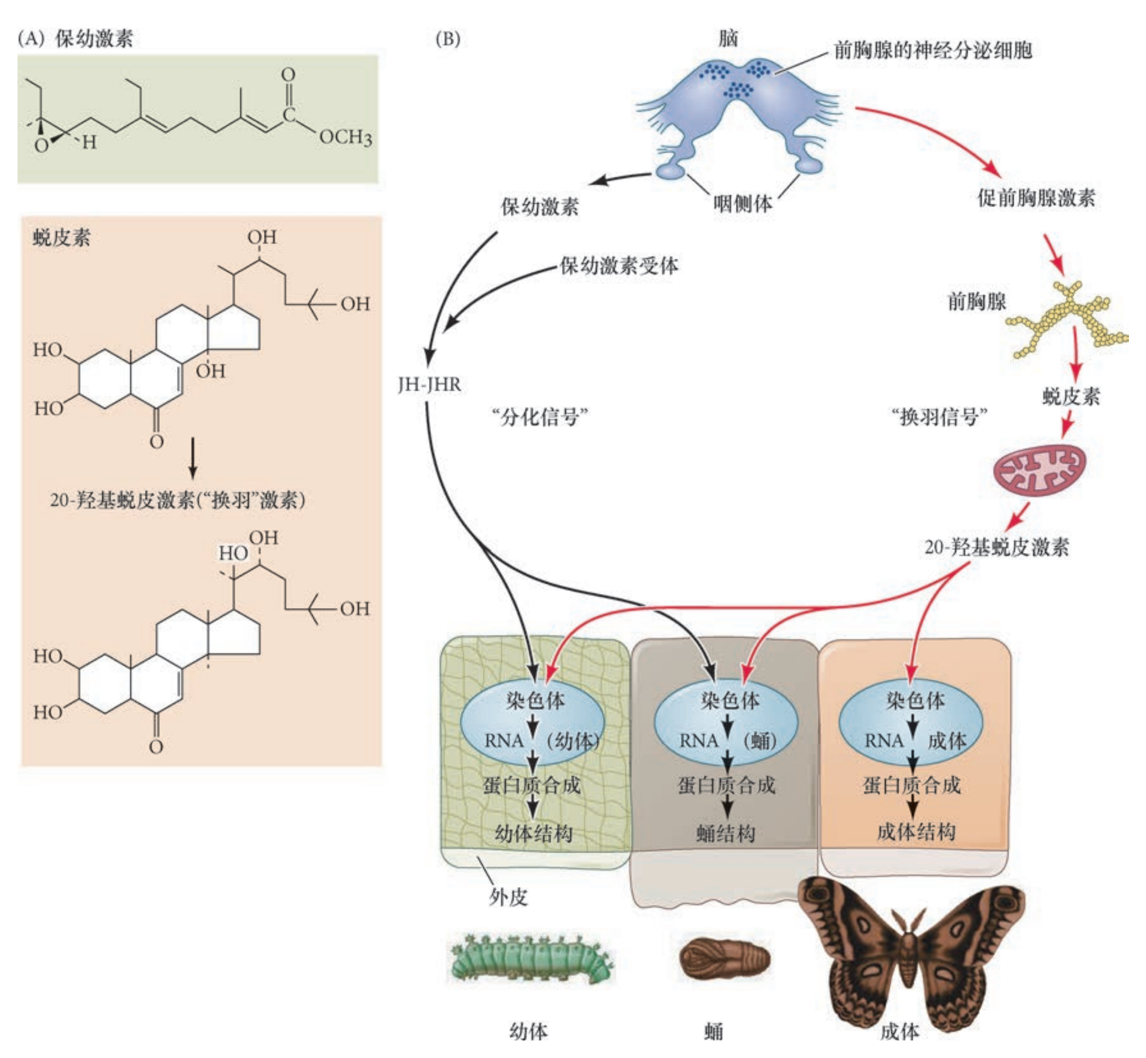


图 21.12　昆虫变态的调节。(A) 保幼激素、蜕皮素以及具有活性的换羽激素 20- 羟基蜕皮激素的结构。(B) 昆虫变态的总体途径。20- 羟基蜕皮激素和保幼激素共同引起下一个幼体龄的换羽。保幼激素的浓度变得足够低时，20- 羟基蜕皮激素诱导的换羽产生一个蛹，而不是一个幼体。当 20- 羟基蜕皮激素在没有保幼激素的情况下发挥作用时，成虫盘分化，这次的换羽产生一个成体（成虫）。JH-JHR，保幼激素 - 保幼激素受体（参考 Gilbert and Goodman 1981）。

素受体 -Usp 受体复合物在结构上与两栖类的甲状腺激素受体 -RXR 复合物十分相似。蜕皮素受体和 Usp 蛋白都能结合 DNA；然后它们在蜕皮素应答基因的增强子或启动子元件上形成二聚体（Szamborska-Gbur et al. 2014）。

蜕皮素受体在没有结合激素的情况下，Usp 被认为能招募一些蜕皮素应答基因的转录抑制物（Tsai et al. 1999）。蜕皮素与受体结合时，这种抑制被转变成激活。蜕皮素结合的蜕皮素受体 -Usp 复合物招募一些能够激活蜕皮素应答基因的组蛋白甲基转移酶（Sedkov et al. 2003）。但是，其他机制也可能发挥作用。例如，Johnston 及其同事（2011）发现，没有激素结合蜕皮素受体时，另一个转录因子（E75）结合这些蜕皮素应答位点并抑制转录。因此，蜕皮素帮助介导蜕皮素受体 -Usp 与 E75 竞争相同的顺式调控位点。

20- 羟基蜕皮激素与 DNA 的结合　果蝇变态的一些早期事件在研究蜕皮素对多线染色体的影响时被首次阐明。在果蝇换羽和变态过程中，多线染色体的一些区域在特定时间和特定器官的细胞中出现"膨突"（图 21.13；Clever 1966；Ashburner 1972；Ashburner and Berondes 1978）。这些染色体膨突是 DNA 正在被活跃转录的区域。将 20- 羟基蜕皮激素添加到幼体唾液腺后，一些膨突出现，另一些回缩。结合 20- 羟

基蜕皮激素的荧光抗体显示这个激素定位在膨突位点，进一步证明了 20- 羟基蜕皮激素在膨突位点参与靶基因的转录（Gronemeyer and Pongs 1980）。在这些位点，结合蜕皮素的受体复合物招募一个组蛋白甲基转移酶，使组蛋白 H3 的第 4 位赖氨酸发生甲基化，从而使那个区域的核小体变得松散（Sedkov et al. 2003）。最为显著的是，在最初的膨突形成之后，其他的膨突出现回缩。几个小时以后，染色体上形成了更多的膨突。Ashburner（1974，1990）猜测，“早期膨突”基因产生“晚期膨突”基因激活所需的蛋白质产物，而且这个早期调节性蛋白本身能关闭早期膨突基因的转录[5]。这些猜想已经被分子实验分析所证实。

袖珍指南

果蝇部分的一段视频显示怎样使用果蝇幼体唾液腺进行染色体压片。

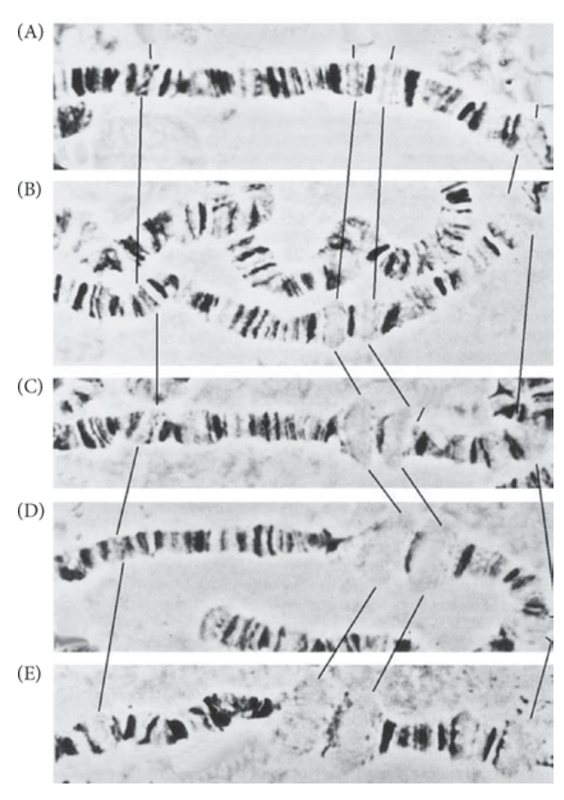


图 21.13 20- 羟基蜕皮激素在体外培养的果蝇唾液腺细胞中诱导的膨突。(A) 未诱导的对照染色体。(B ～ E) 20- 羟基蜕皮激素刺激的染色体在 25 min (B)、1 h (C)、2 h (D)、4 h (E) 的状态（由 M. Ashburner 提供）。

图 21.14A 代表果蝇变态体系的简化示意图。首先，20- 羟基蜕皮激素结合蜕皮素受体 /Usp 受体形成的复合物，这个复合物激活一些“早期应答基因”，包括 *E74* 和 *E75*（**图 21.18** 中的膨突），以及 *Broad* 基因和蜕皮素受体自身的基因。所有这些基因编码的转录因子激活第二组基因，如 *E75*、*DHR4*（果蝇激素受体 -4）和 *DHR3*。这些基因的产物也是一些转录因子，它们共同作用使蛹形成。其次，第二波基因的产物关闭早期应答基因，使得这些基因不干扰第二波 20- 羟基蜕皮激素。第三，20- 羟基蜕皮激素激活一些基因，它们的产物能失活和降解蜕皮素本身。通过这种方式，细胞核内的激素被清除，使得它能够应答第二个脉冲。而且，20- 羟基蜕皮激素通常抑制编码 βFTZ-F1 的基因。因此这个转录因子在这时能被合成，它使新一组基因能够应答第二波 20- 羟基蜕皮激素（Rewitz et al. 2009）。此外，DHR4 协调幼体的生长和行为。它使幼体在达到一定重量后停止觅食，开始寻找一个使自身黏着的位置，并形成一个蛹（Urness and Thummel 1995；Crossgrove et al. 1996；King-Jones et al. 2005）。

这两个 20- 羟基蜕皮激素脉冲的作用可能存在极大差异。其中一个例子是幼体唾液腺中蜕皮素介导的变化。20- 羟基蜕皮激素的早期脉冲激活 *Broad* 基因，这个基因通过差异性 RNA 剪接编码一个家族的转录因子。Broad 复合物蛋白的靶点包括编码唾液腺“胶蛋白”的一些基因，这些胶蛋白能使幼体黏附在一个坚固的表面，在这里变成一个蛹（Guay and Guild 1991）。这时，20- 羟基蜕皮激素结合蜕皮素受体的 A 型异构体（**图 21.14B**）。与 Usp 形成复合物后，它激活早期应答基因 *E74*、*E75* 和 *Broad* 的转录。但是现在有一组不同的靶基因被激活。早期基因编码的转录因子激活编码促凋亡蛋白 Hid 和 Reaper 的基因，并阻断 *diap2* 基因的表达（否则这个基因将会抑制细胞凋亡）。因此，第一个脉冲的 20- 羟基蜕皮激素刺激幼体唾液腺的功能，而第二个脉冲却要求破坏这一幼体器官（Buszczak and Segraves 2000；Jiang et al. 2000）。

像蜕皮素受体的基因一样，*Broad* 基因通过差异性启动和剪接信使能产生多种不同的转录因子。而且，蜕皮素受体的一些变体（蜕皮素受体 A、蜕皮素受体 B1 和蜕皮素受体 B2）与 Usp 结合时可以诱导

---

[5] 对 20- 羟基蜕皮激素控制染色体转录单位的观察是一个极其重要和令人兴奋的发现。人们仅通过光学显微镜就能看到正在进行的转录。这是我们在真核生物中第一次真正目睹基因调节。在这个发现之前，转录性基因调节的唯一例子仅见于细菌。

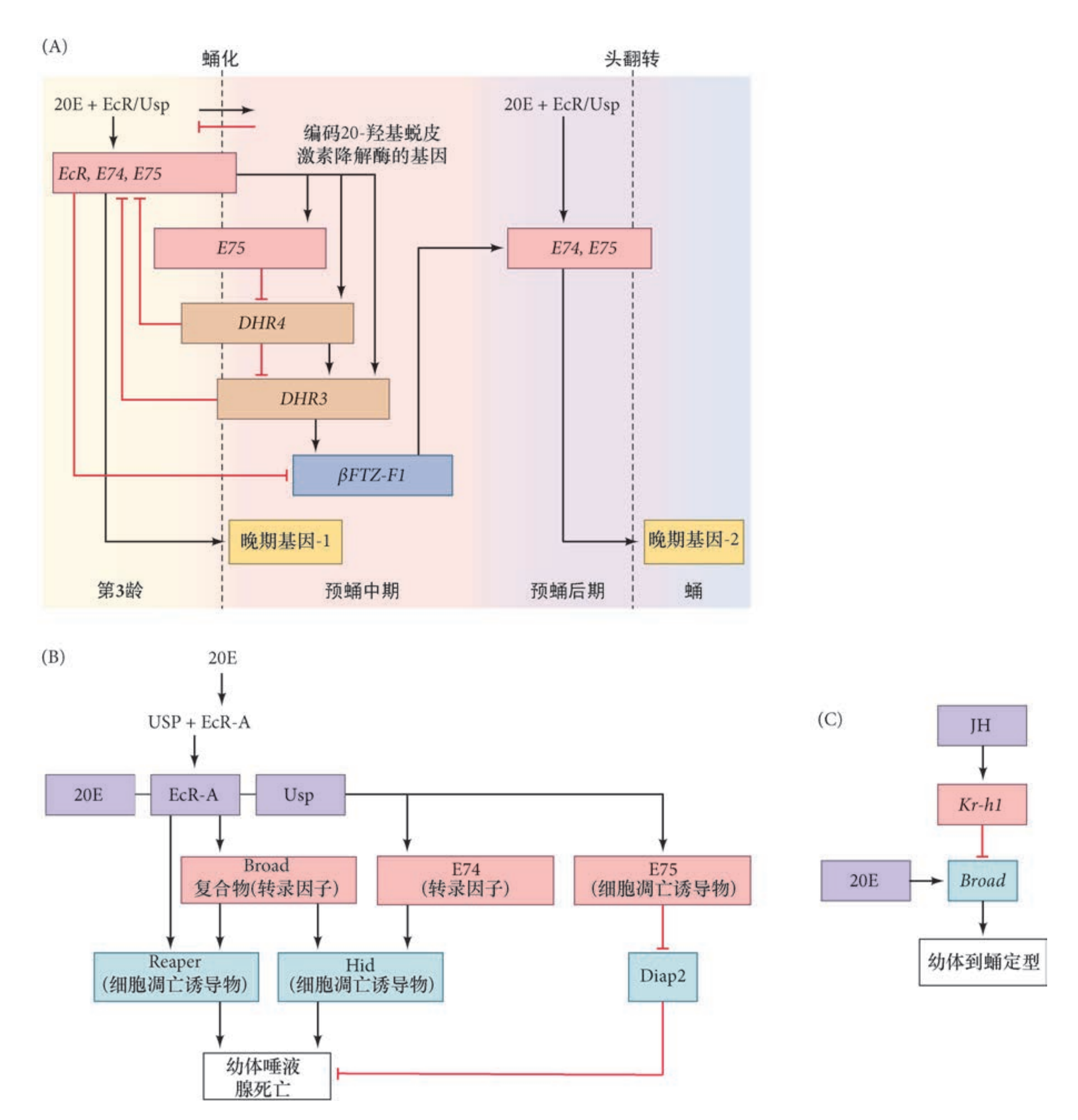


图 21.14　20- 羟基蜕皮激素（20E）启动发育进程。（A）果蝇变态过程中主要基因表达级联示意图。20- 羟基蜕皮激素结合蜕皮素受体（EcR）/Usp 复合物后激活早期应答基因，包括 *E74*、*E75* 和 *Broad*。这些基因的产物激活“晚期基因”。活化的蜕皮素受体 /Usp 复合物也激活一系列基因，其产物是一些转录因子并能激活 βFTZ-F1 的基因。βFTZ-F1 蛋白修饰染色质，使得下一个脉冲的 20- 羟基蜕皮激素激活一组不同的晚期基因。这些晚期基因的产物也抑制早期表达的基因，包括蜕皮素受体的基因。（B）从蜕皮素的接收到幼体唾液腺死亡的假设级联反应。20- 羟基蜕皮激素结合蜕皮素受体 A（EcR-A）异构体。与 Usp 形成复合物后，活化的转录因子复合物刺激早期应答基因 *E74A*、*E75B* 及 *Broad* 复合物的转录。这些基因促进唾液腺细胞的凋亡。（C）保幼激素（JH）结合它的受体 Met 时激活 *Kr-h1* 基因。Kr-h1 蛋白是阻断 20- 羟基蜕皮激素激活 *Broad* 基因的阻遏性转录因子（A 图来自 King- Jones et al. 2005，Rewitz et al. 2010；B 图参考 Buszczak and Segraves 2000；C 图参考 Hiruma 和 Kaneko 2013）。

Broad 蛋白特定变体的合成。一些在变态过程中注定要死亡的器官，如幼体唾液腺，表达 Broad 的 Z1 型变体；注定要分化的成虫盘表达 Z2 型变体；中枢神经系统（在变态过程中经历显著的重塑）则表达所有的类型，其中以 Z3 型为主（Emery et al. 1994；Crossgrove et al. 1996）。

但是，如果有保幼激素，*Broad* 基因就被抑制，所以不会发生变态（Riddiford 1972；Zhou and

Riddiford 2002；Hiruma and Kaneko 2013）。保幼激素通过结合它的核受体（Met 蛋白）[6]，并将这个受体转变成转录因子，维持幼体到幼体换羽的现状。结合保幼激素的 Met 蛋白激活 *Kr-h1* 基因，其产物是一个抑制性转录因子，能阻断 *Broad* 基因的激活（图 21.14C；Minakuchi et al. 2008；Charles et al. 2011；Li et al. 2011）。因此，保幼激素的存在使 *Broad* 基因不能被激活，变态被阻断。

网络话题 21.4 **早熟素和合成保幼激素** 鉴于昆虫幼体的贪食，令人惊奇的是植物还能存活下来。但是，很多植物通过产生一些改变昆虫变态的化合物来报复它们的捕食者，从而阻止这些动物的发育和生殖。

21.2.4 翅成虫盘的决定

当蜕皮素信号不受保幼激素的影响时，它激活已经被决定的成虫盘的生长和分化。例如，最大的果蝇成虫盘是翅成虫盘，大约含有 6 万个细胞。相比之下，腿和平衡棒成虫盘各含有大约 1 万个细胞（Fristrom 1972）。翅成虫盘因为表达 *vestigial* 基因而有别于其他成虫盘（Kim et al. 1996）。这个基因在任何成虫盘表达时，翅组织就会出现。

前后区室 翅的几个轴被一些将胚胎分隔成离散但又互相作用的区室的基因表达图式所特化（图 21.15A；Meinhardt 1980；Causo et al. 1993；Tabata et al. 1995）。翅的前 - 后轴在第 1 龄幼体时就开始被特化。这时，*engrailed* 基因的表达使得翅的后部区室有别于前部区室。Engrailed 转录因子仅在后部区室表达，它在那些细胞中激活旁分泌因子 Hedgehog 的基因。Hedgehog 的扩散在翅成虫盘前部区域一个窄的细胞带中以一种复杂的方式激活编码骨形态发生蛋白同源物的 *Decapentaplegic*（*Dpp*）和 *Glassbottom boat*（*Gbb*）基因（Ho et al. 2005）。

这些骨形态发生蛋白建立骨形态发生蛋白信号的活性梯度（Matsuda and Shimmi 2012）。骨形态发生蛋白通过磷酸化 Mad 转录因子（一个 Smad 蛋白）而使其激活，因此这个梯度可以通过 Mad 的

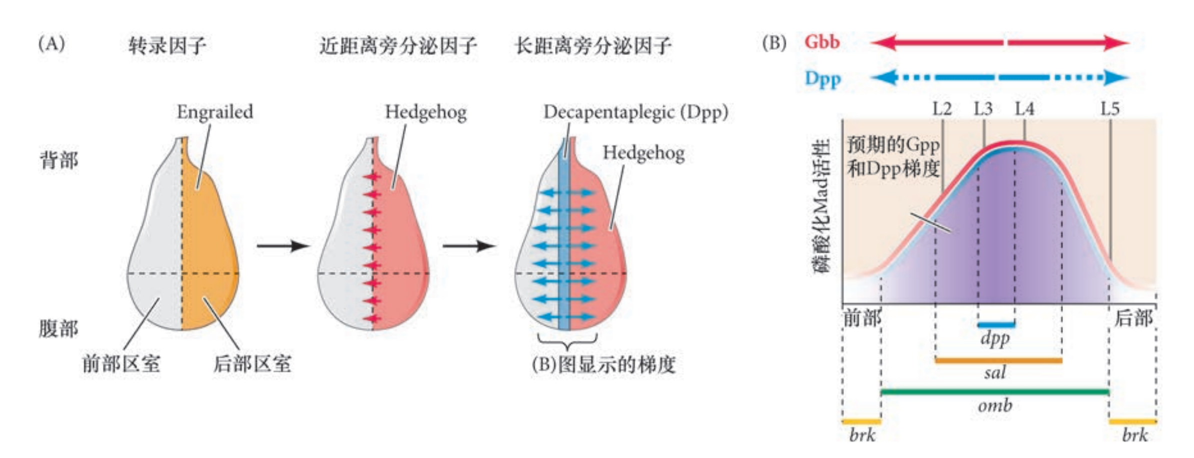
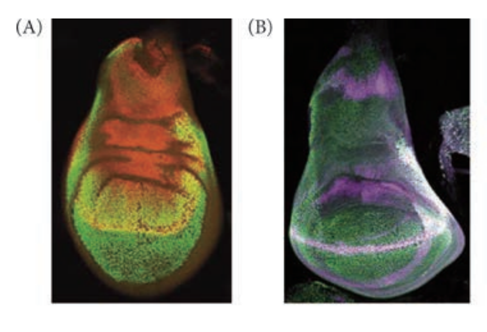


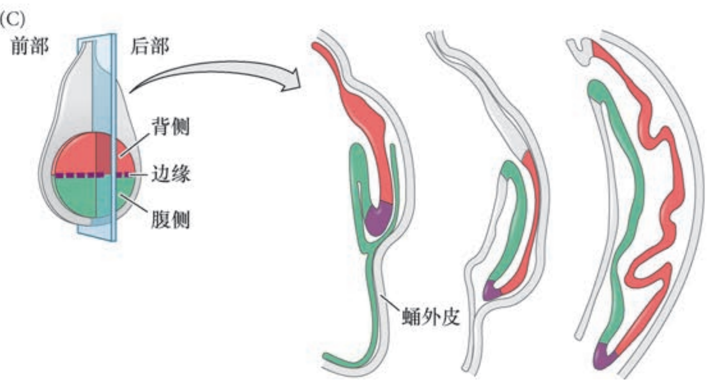
图 21.15 翅成虫盘的区室化和前 - 后轴图式化。（A）在第 1 龄幼体，前 - 后轴已经形成，并且可以通过 *engrailed* 基因在后部区室的表达来识别。Engrailed 是一个转录因子，它激活 *hedgehog* 基因。Hedgehog 作为一个近距离旁分泌因子在毗邻后部区室的前部细胞中激活 *decapentaolegic*（*dpp*）基因，Dpp 和另一个相关蛋白 Glass-bottom boat（Gbb）在后部区室发挥长距离作用。（B）Dpp 和 Gbb 蛋白建立一个类似于骨形态发生蛋白信号的浓度梯度，这可以通过 Mad 的磷酸化（pMad）予以检测。高浓度的 Dpp 和 Gbb 在信号源头周围激活 *spalt*（*sal*）和 *optomotor blind*（*omb*）基因；低浓度（接近外围的位置）时仅有 *omb* 被激活，*sal* 不被激活。当 Dpp 和 Gbb 的水平低于一定阈值后，*brinker*（*brk*）基因不再受到抑制。L2 ～ L5 标记翅的纵脉，L2 位于最前部（参考 Bangi and Wharton 2006）。

[6] 不要与脊椎动物中不相关的 Met 受体相混淆（那是一个肝细胞生长因子的细胞膜受体）。保幼激素的受体 Met 是通过它结合烯虫酯的能力而被鉴别出来的。烯虫酯是一种类似于保幼激素的杀虫剂，因此能够抑制变态（Konopova and Jindra 2007；Charles et al. 2011）。

磷酸化来检测。Dpp 是一个近距离旁分泌因子，而 Gbb 则表现出更长距离的扩散，进而建立一个梯度（**图 21.15B**；Bangi and Wharton 2006）。这个信号梯度调节翅区域的细胞增殖量，也特化细胞命运（Rogulja and Irvine 2005；Hamaratoglu et al. 2014）。一些转录因子的基因差异性地应答活化的 Mad。高水平的 Mad 激活 *spalt*（*sal*）和 *optomotor blind*（*omb*）基因，而较低水平的 Mad（主要是 Gbb 提供的信号）只激活 *omb* 基因。当磷酸化的 Mad 活性低于一个特定水平时，*brinker*（*brk*）基因不再被抑制，因此，*brk* 表达在信号区域之外。翅的特定细胞命运在应答这些转录因子的作用时受到特化。例如，翅的第 5 个纵脉在 *optomotor blind* 和 *brinker* 这两个基因表达区域的交界处形成（见图 21.15B）。虽然一些实验证据显示 Dpp 调节翅的生长，但它的作用机制还不清楚（Hamaratoglu et al. 2014；Hariharan 2015）。

背 - 腹轴和近 - 远轴　翅的背 - 腹轴在第 2 龄期形成，受控于 *apterous* 基因在翅成虫盘未来背侧细胞的表达（Blair 1993；Diaz-Benjumea and Cohen 1993）。在这个位置，翅的上层有别于翅的下层（Bryant 1970；Garcia-Bellido et al. 1973）。在翅成虫盘的腹侧部分，*vestigial* 基因仍然活跃表达（**图 21.16A**）。翅的背侧部分合成一些阻止背侧和腹侧细胞相混合的跨膜蛋白（Milán et al. 2005）。在背侧和腹侧区室之间的边界，Apterous 和 Vestigial 转录因子相互作用，激活 *Wingless*（编码 Wnt 旁分泌因子）基因的表达（**图 21.16B**）。Neumann 和 Cohen（1996）证明，Wingless 蛋白作为一个生长因子，促进能够使翅延伸的细胞增殖。Wingless 也帮助建立翅的近 - 远轴：高水平的 Wingless 激活 *Distal-less* 基因，这个基因特化翅的最远端区域（Neumann and Cohen 1996，1997；Zecca et al. 1996）。这发生在成虫盘的中央并向外延伸成翅的远端边缘（**图 21.16C**）。因此，一系列旁分泌因子参与翅成虫盘的图式化，沿背 - 腹轴、近 - 远轴和前 - 后轴方向赋予细胞一种特征。在变态中，我们看到了产生幼体本身发育现象的再现。





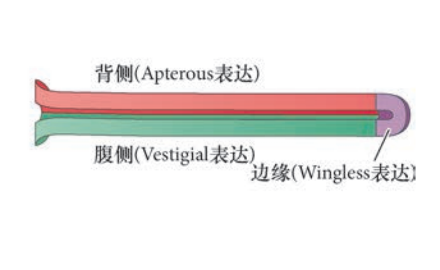


图 21.16　决定背 - 腹轴。(A) 翅的未来腹侧表面被 Vestigial 蛋白的抗体染成绿色，而未来背侧表面被 Apterous 蛋白的抗体染成红色。黄色区域显示两个蛋白质在边缘重叠的位置。(B) 在边缘的接合处合成的 Wingless 蛋白（紫色）沿背 - 腹轴组织翅成虫盘。表达 Vestigial 的细胞（绿色）与表达 Wingless 的细胞很接近。(C) 翅成虫盘的背侧和腹侧部分向外延伸，形成双层的翅。基因表达图式显示在双层的翅上（A 图和 B 图由 S. Carroll 和 S. Paddock 提供）。

网络话题 21.5　**同源特化**　如果一个成虫盘中的一组细胞发生突变，以至于它们产生了具有另一个成虫盘特征的结构（例如，来自腿成虫盘的细胞形成了触角的结构），那些结构的区域性特征将会与它们在原来成虫盘的位置保持一致。

21.3 长腕幼体的变态

海胆经历完全变态，形成一个“初级幼体”，即长腕幼体，但在后来它几乎作为一个整体被完全抛弃。成体海胆的几乎整个身体都来自长腕体原肠腔的左体腔囊。幼体的骨骼被遗弃，而其余部分经历程序性死亡，为幼态生长提供原材料。随着长腕幼体的形成，原肠腔的顶部与囊胚腔壁相接触。在这里，次级间充质细胞形成右侧和左侧的体腔囊（见图 10.10，13.5 h）。在 Nodal 蛋白的影响下，右体腔囊保持退化状态，而左体腔囊经历全面发育而产生成体海胆的结构。这种生长受控于左侧激活的骨形态发生蛋白信号。形成生殖细胞的小卵裂球被趋化因子吸引到体腔囊，这些趋化因子通过类似于果蝇眼中的基因调控网络被合成出来（Yajima and Wessels 2012；Campanale et al. 2014；Martik and McClay 2015）。原生殖细胞主要被保留在左体腔囊（Luo and Su 2012；Warner et al. 2012）。

左体腔囊最终被划分成三个小囊。来自外胚层的一个内陷与中部的囊融合后产生**成虫原基（imaginal rudiment）**，只有反口的表皮来自幼体的真皮。这个原基形成五边（五辐射）对称（**图 21.17**），成骨间质细胞进入原基以合成最早的外壳骨板。长腕幼体的左侧实际上将变为成体海胆的未来口面（Bury 1895；Aihara and Amemiya 2001；Minsuk et al. 2009）。在变态过程中，幼体在海底附着，成虫原基与幼体分离，然后幼体退化。如我们将在第 25 章所述，幼体附着的信息通常包括各种环境因素，如光周期、湍流、潜在食物源释放的化学物质。在一些海胆物种，湍流产生的剪切应力能使幼体感知并应答来自藻类和细菌的化学物质，这些化学物质暗示成体海胆将会有丰富的食物（Rowley 1989；Gaylord et al. 2013；Nielsen et al. 2015）。在成虫原基（这时称为幼态）重新形成消化道时，它依赖于从分解的幼体结构中获得的营养物。



图 21.17 成虫原基在海胆长腕幼体的左侧生长。这个原基将变为成体海胆，而大部分幼体结构将被分解。原基的五边对称特征十分明显（由 G. Wray 提供）。

拓展性问题

长腕幼体不产生配子，因此不能进行有性生殖。但是，有研究发现它进行无性生殖。在什么情况下无性的幼体可能会通过芽出自身的部分而进行复制？

成体棘皮动物的五辐射对称非常独特，这使它们有别于很多两侧对称动物。但值得注意的是，长腕幼体是双侧对称，这是棘皮动物与两侧对称脊索动物有一个共同祖先的证据（Zamora et al. 2012，2015）。海胆幼体和成体有巨大的差异。的确，长腕幼体是一个不具备有性繁殖能力和自由游动的浮游扩散时期，而成体则在海底以刮擦藻类为食，产生数千个配子。同样有趣的是，像两栖类一样，棘皮动物（如海胆）也使用甲状腺激素为变态提供信息（Chino et al. 1994；Heyland and Hodin 2004）。

下一步的研究

我们对于变态的无知令人震惊。关于变态，我们也只对其大致的轮廓有所认识，但这仅限于少数物种。而且，遗传指令被转变成躯体变化的机制也刚刚开始被理解。例如，一些实验证据显示 Dpp 控制果蝇成虫盘的生长，但我们不知道这是通过什么方式。我们甚至不知道一些像 Dpp 和 Hedgehog 这样的旁分泌因子怎样从它们合成的位置被转运到应答细胞。关于变态的一些重要未解答案之一是相同刺激物的不同应答。同一激素能指令一组细胞进行增殖，但却使邻近一组细胞死亡。我们仍然不明白是什么介导了这些不同的应答。



开篇图的思考

就像 Alfred Lord Tennyson（1886）的直觉告诉他的那样："旧的秩序已经改变，新的秩序正在形成"。变态将一个个体分成两个不同的生命周期，伴有不同的解剖结构、不同的生理机能和不同的生态微环境。玛丽亚 · 梅里安（Maria Merian）在 18 世纪初发现并描述了昆虫的生命周期，这位艺术家，除了其他作品以外，还描绘了南美洲苏里南的蝴蝶。梅里安版画作品（1705）的这一部分展现了梦幻闪蝶（*Morpho deidamia*）幼体、蛹和成体的形态。毛虫正在吃巴巴多斯樱桃树的树叶；这个物种的蛹酷似那棵树的叶子。梅里安也注意到不同物种的幼体与它们的成体蝴蝶需要不同的植物。在很多情况下，幼体的食用植物含有成体将会吸收的有毒化学物质。例如，帝王蝶的毛虫从植物中摄入毒性生物碱；这些毒素使变态的成体让一些鸟难以接受（鸟也就记住了不吃帝王蝴蝶）。



21 要点总结

变态

1. 两栖类的变态包括形态和生化变化。一些结构被重塑，一些被替换，还有一些新结构的形成。
2. 参与两栖类变态的激素是三碘甲腺原氨酸。它从甲状腺素合成，脱碘酶对三碘甲腺原氨酸的降解在不同组织中调节变态。三碘甲腺原氨酸结合甲状腺激素受体，主要在转录水平上发挥作用。
3. 两栖类变态过程中的很多变化都具有区域特异性：尾部肌肉退化；躯干肌肉保留。眼即便是被移植到正在退化的尾部也能保留下来。
4. 两栖类的变态变化来自细胞死亡、细胞分化或细胞类型的转变。
5. 变态事件发生的特定时间受不同水平甲状腺激素产生的不同事件所协调。
6. 直接发育动物没有幼体期。初级幼体（如海胆的幼体）特化体轴的方式与成体不同，而次级幼体（如昆虫和两栖类的幼体）与成体具有相同的体轴。
7. 非变态昆虫经历直接发育。半变态昆虫经历一个若虫期，未成熟的生物体通常是成体的小版本。
8. 完全变态的昆虫有一个从幼体到蛹再到性成熟成体的剧烈变态。处在每次幼体换羽的时期被称为龄。在最后一龄之后，幼体经历一次变态换羽而变成蛹。蛹经历一次成虫换羽而变为成体。
9. 在蛹期，成虫盘及成组织细胞通过生长和分化以产生成体的结构。
10. 前 - 后轴、背 - 腹轴和近 - 远轴通过成虫盘不同区域之间的相互作用被次序性特化。成虫盘在发育过程中向外延伸，它的中央区域变成远端。
11. 换羽受 20- 羟基蜕皮激素启动。在有高水平的保幼激素时，换羽产生另一个幼体龄。在有低水平的保幼激素时，换羽产生一个蛹；如果没有保幼激素，那一次换羽将是成虫换羽。
12. 蜕皮素受体基因产生一个核 RNA，能形成至少三种不同的蛋白质。一个细胞的蜕皮素受体类型能影响这个细胞对 20- 羟基蜕皮激素的应答。蜕皮素受体结合 DNA，以激活或抑制转录。
13. 海胆经历完全变态，形成一个初级幼体，即长腕幼体。成体海胆的整个身体几乎都来自长腕幼体原肠腔左侧的体腔囊，称为成虫原基。

拓展阅读

Cai, L. and D. D. Brown. 2004. Expression of type II iodothyronine deiodinase marks the time that a tissue responds to thyroid hormone-induced metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol*. 266: 87–95.

Grimaldi, A., N. Buisien, T. Miller, Y.-B. Shi and L. M. Sachs. 2013. Mechanisms of thyroid hormone receptor action during development: Lessons from amphibian studies. *Bioch. Biophys. Acta* 1830: 3882–3892.

Hamaratoglu, F., M. Affolter and G. Pyrowolakis. 2014. Dpp/BMP signaling in flies: From molecules to biology. *Sem. Cell Dev. Biol*. 32: 128–136.

Hiruma. K. and Y. Kaneko. 2013. Hormonal regulation of insect metamorphosis with special reference to juvenile hormone biosynthesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* 103: 73–100.

Jiang, C., A. F. Lamblin, H. Steller and C. S. Thummel. 2000. A steroid-triggered transcriptional hierarchy controls salivary gland cell death during *Drosophila* metamorphosis. *Mol. Cell* 5: 445–455.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

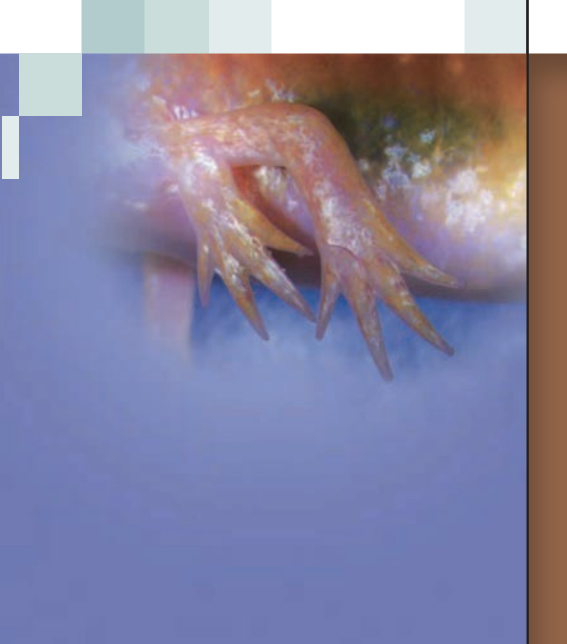
第 22 章

再生

发育从不停止。在整个生命过程中，我们不间断地从干细胞产生新的血细胞、表皮细胞及消化道上皮。胚胎样发育的一个很明显的重现是再生，也就是成体动物对身体缺失部分的重置。不管是西班牙探险家 Ponce de Leon 寻找的不老泉，还是漫威漫画中的超级英雄金刚狼，再生都使作家、艺术家和好莱坞同行的想象力着迷。幸运的是，这并不仅仅是科幻小说。更重要的是，再生已经引起了科学家的好奇，他们在研究一些物种所呈现的巨大再生潜能的发育机制中已经了取得重要进展。例如，成体蝾螈的四肢和尾部被截断后能够重新生长（甚至金刚狼都没有被这样描述过，至少是在这个宇宙中！[1]）。

精神御体？

[1] 对于漫画书和 X 战警的爱好者，这个科幻动作片中描述了不同的宇宙维度，我们地球的宇宙维度是 616。严格来说，在另一宇宙（295），金刚狼的手在“天启时代”被割断。只有在他的再生能力被唤醒之后才得以修复。因此，金刚狼的这种再生能力实际上有可能是模仿了蝾螈，而不是水螅（当然，在这里我们所指的并不是美国队长的头号死敌九头蛇）。



要点

再生是在我们熟悉的胚胎发育程序下运作的胚胎后事件。再生组织的能力存在物种差异，水螅和涡虫几乎具有完全再生的能力，蝾螈和鱼类能够替代一些复杂的结构，哺乳动物为生长和维持而添加及替代细胞的能力有限。在再生过程中，局部的细胞增殖或细胞迁移至创伤处建立一个未分化的芽基，它能够生长和分化以替代损伤组织。一个芽基能够通过多能干细胞而建立（如涡虫），或者通过来自去分化的谱系限制性祖细胞而建立（如蝾螈的肢）。再生也可以通过分化细胞的补偿性增殖或转分化而对已有组织进行重塑来实现，斑马鱼心脏的再生就是这样的例子。哺乳动物的肝不能完全再生，但是当这个器官的一叶受损或被切除时，剩余的肝块则会生长以补偿损失。本书中讨论的几乎每一个发育途径都在再生中起作用。在这些反复出现的参与者中，最常见的是 Wnt/β－联蛋白途径。

如果不弄清楚为什么人类不能重新长出臂和腿，我们就很难领悟蝾螈肢再生的现象。是什么赋予了这些动物这种我们人类非常缺乏的能力？实验生物学的诞生是 18 世纪博物学家为了回答这个问题所做出的努力（见 Morgan 1901）。Abraham Tremblay（利用水螅，一种刺胞动物）、René Antoine Ferchault de Réaumur（利用甲壳纲动物）、Lazzaro Spallanzani（利用蝾螈）进行的再生实验为实验研究和数据的见解性讨论设定了标准（见 Dinsmore 1991）。两个多世纪以后，我们开始找到一些重大再生问题的答案，在某种意义上，我们也许可以改变人体以使我们自己的肢能够再生。

22.1 多种方式的重建

“我愿意献上我的右臂来揭示再生的奥秘”。Oscar E. Schotté（1950）的这句话捕捉了科学对某些生物的显著自我重建能力所展现的魅力。**再生**（**regeneration**）是胚胎后的生命中发育的重新激活，以恢复那些缺失或损伤的组织。这种再生能力对于人类的潜在效益将意味着：截断的肢可以被恢复；病变的器官被切除后能重新生长；受年龄、疾病和创伤改变的神经细胞可以重新发挥正常功能。在现代医学能够成功诱导人体骨骼或神经组织进行再生之前，我们必须首先了解再生是怎样在那些已经具有这种能力的物种中发生的。我们对旁分泌因子在器官形成中的作用的认识，以及我们具备克隆这些因子的基因的能力，推动了 Susan Bryant（1999）所说的“再生复兴”。“复兴”在字面上意为“再出生”，因为再生可能涉及胚胎状态的恢复，所以这个术语在很多方面都适用。

再生几乎见于所有的物种，一些生物已经成为特别富有成效的再生研究模型（**图 22.1**）。水螅和涡虫的几乎完全再生是无与伦比的，它们在被截断后能够再生出一个完整的生物，或从小块组织再生出一个完整的个体；有些蝾螈在四足动物中非常独特，它们能够再生整个肢；蛙的幼体常被用于研究尾部和眼晶状体的再生。最近证明斑马鱼有利于研究中枢神经系统、视网膜、心脏、肝和鳍再生的机制。此外，虽然哺乳动物不能重建完整的附属器，但个别组织和器官具有不同程度的再生能力，最为显著的是鹿角的再生。

除了再生潜能的差异之外，每一个模式体系都是四种再生方式中的一种或多种方式的示例（**图 22.2**）。

1. 干细胞介导的再生。干细胞使生物体重新生长一些缺失的器官或组织；这样的例子包括毛干从毛发隆突中毛囊干细胞的重新生长，以及血细胞被骨髓造血干细胞不断替代。
2. 新建再生。在某些物种，成体结构经历去分化以形成相对未分化的一团细胞（芽基），然后再分化形成新的结构。这是两栖类肢再生过程的特征。
3. 变形再生。这种形式的再生是通过重新图式化已有的组织（转分化）而实现的，仅有极少的新生长。这种再生形式见于水螅。
4. 补偿性再生。已经分化的细胞进行分裂，但保持原来的分化功能。新的细胞既不来自干细胞，也不来自成体细胞的去分化。每个细胞产生类似于自身的细胞；没有未分化组织块的形成。这种类型的再生是哺乳动物肝的特征。

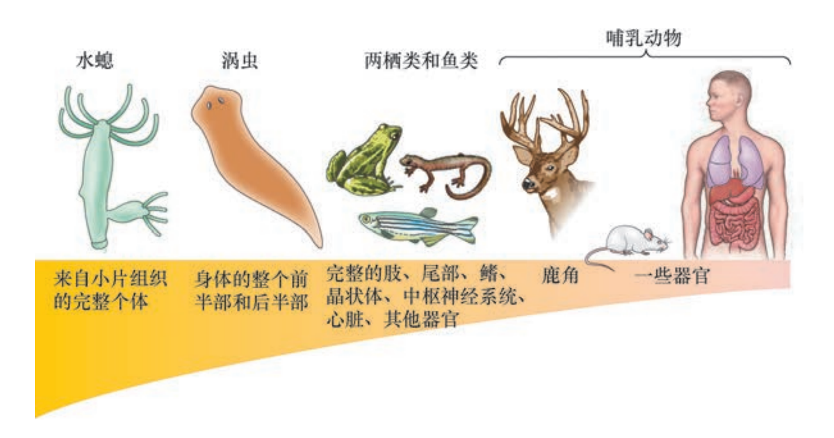


图 22.1 代表性生物及其比较性再生能力。

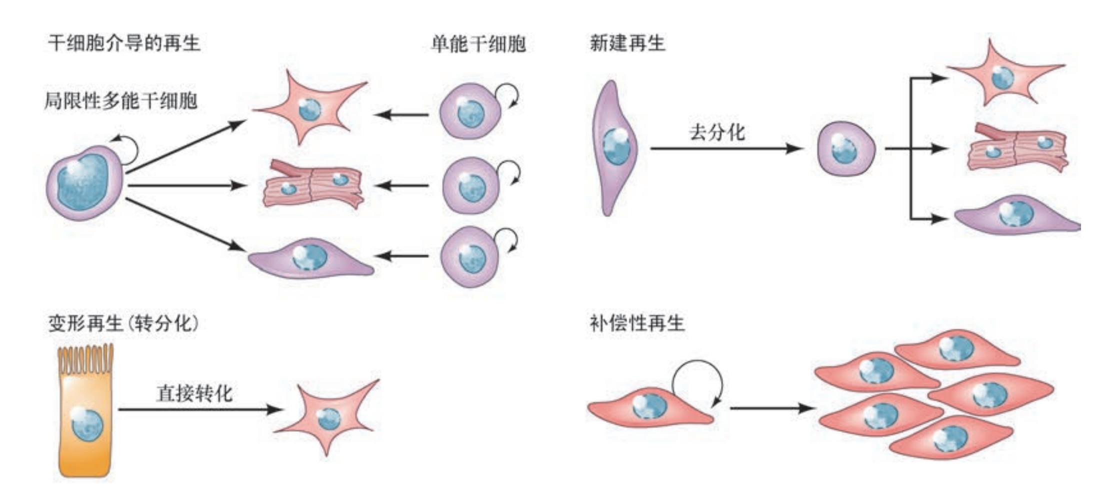


图 22.2 四种不同方式的再生。

22.2 水螅：干细胞介导的再生、变形再生、新建再生

水螅是一个属的淡水刺胞动物[2]。大多数水螅都非常小，大约 0.5 cm 长。水螅具有一个管状和径向对称的身体，一个“头”部位于远端、一个“足”部位于近端。它的“足”部，或**基盘**（**basal disc**），能使动物黏附在石块或池塘植物的下侧。“头”部由一个圆锥形的**垂唇**（**hypostome**）区域组成，包括口和一圈用于捕食的口下触手。水螅是一种双胚层动物，只有外胚层和内胚层（图 22.3A）。这两个上皮层被称为**肌上皮**（**myoepithelium**），因为它们具有上皮细胞和肌细胞的特征。尽管水螅没有真正的中胚层，但它们的确含有分泌细胞、配子、刺细胞和不属于两个上皮层的神经元（图 22.3B；Li et al. 2015）。水螅能进行有性生殖，但只有在恶劣的条件下（如拥挤或低温）才会这么做。它们通常进行无性生殖，通过萌芽长出一个新的个体。这些芽大约在动物体轴下部的 2/3 处形成。

22.2.1 三种干细胞的日常细胞替换

水螅的身体并不特别稳定。例如，在人类和蝇类，躯干的皮肤细胞大概不会迁移，最终从面部或足上脱落，但这正是水螅中发生的现象。体柱的细胞不断进行有丝分裂，最终位移到体柱的端部，并在那里脱落（图 22.3C；Campbell 1967a，b）。因此，每个细胞都具有多种作用，取决于它的年龄，且特化细胞命运的信号必须始终处于活化的状态。在某种意义上，水螅的身体总是处于再生的状态。

这种细胞替换来自三种细胞类型。内胚层和外胚层细胞是不断分裂的单能祖细胞，产生更多的谱系限制性上皮细胞。第三种细胞类型是局限性多能**间质干细胞**（**interstitial stem cell**），存在于外胚层（见图 22.3B）。这种干细胞形成神经元、分泌细胞、刺细胞和配子。这三种干细胞各自最显著的细胞增殖主要发生在身体的中央区域，之后，位移的肌上皮和迁移性间质后代细胞移动到顶端和基端，并在这些位置分化（Buzgariu et al. 2015）。与肌上皮干细胞相比，间质干细胞在细胞周期的 G_2 期（DNA 合成后期）停滞的时间更长，以更快的速度循环（Buzgariu et al. 2014），说明间质干细胞通过快速增殖能快速应答细胞替换的需求。这三种细胞类型对形成水螅都是必需的，如果水螅的细胞被分离和重新聚集，就能形成一个新的水螅（Gierer et al. 1972；Technau 2000；Bode 2011）。

---

[2] 水螅（*Hydra*）既是一个属名也是这些动物的共称。为了简单起见，我们在讨论时将使用常用的（非斜体）形式。这种动物的命名来自 Hydra（九头蛇），是古希腊神话中的多头蛇。每当九头蛇的一个头被砍掉后，它就会再生出两个新的头。大力神赫拉克勒斯（Hercules）用火灼烧它的头部残余部分，最终打败了这个怪物。大力神似乎对再生有明显的兴趣：他还释放了受缚的普罗米修斯，从而停止了他每天受到的部分肝切除（见第 656 页）。

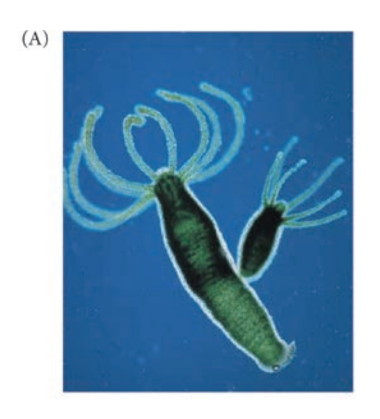
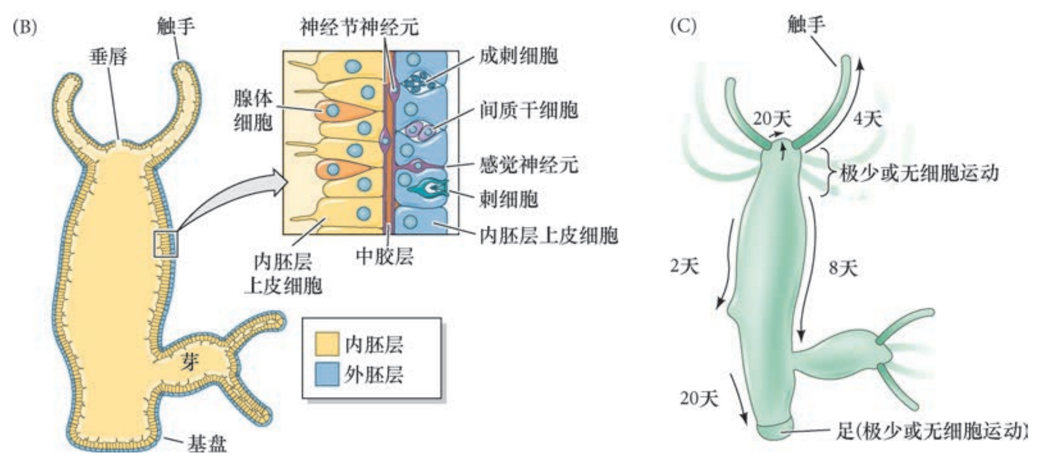


图 22.3 水螅的出芽。(A) 一个新个体芽位于成体水螅下部大约 2/3 处的一侧。(B) 肌上皮及其单能的内胚层和外胚层细胞和局限性间质多能干细胞的图示。(C) 跟踪标记组织的迁移以显示水螅的细胞运动。箭指示标记细胞的起始和离开位置。括弧指示没有发生净细胞运动的区域。除了触手和足以外，整个体柱都进行细胞分裂 (A 图为 Biophoto/Photo Researchers Inc. 版权所有；B 图参考 Li et al. 2015；C 图参考 Steele 2002)。



22.2.2 头部激活物

实验胚胎学，也就是实验生物学，可以说是起始于 Tremblay 对水螅再生的研究[3]。在 1741 年，Tremblay 称“凤凰从自己的灰烬中浴火重生这个故事的确很神奇，但比起我们将要讲述的发现，这并没有什么了不起”。他发现，如果将一只水螅切成 40 多段，“这会重生出同样多类似于最初的完整动物”。每一段都会在原来的顶端再生出一个头部，在原来的基端再生出一个足。很难想象一个人能从膝盖骨一样小的组织中形成！

水螅体柱的每一部分沿顶 - 基轴方向都具有形成头和足的潜能。然而，动物的极性受一系列形态发生梯度的协调，这些梯度使得头部只能在一个位置形成，而基盘只能在另一个位置形成。这种梯度的证据首次来自 Ethel Browne 在 20 世纪初进行的移植实验。如果把一个水螅的垂唇组织移植到另一个水螅的躯体中部，移植的组织就会形成一个新的顶 - 基轴，其中的垂唇会向外延伸（图 22.4A）。如果将基盘移植到一个宿主水螅的中部，这样也会形成一个新轴，但具有相反的极性，并且会延伸出一个基盘（图 22.4B）。如果把两端的组织同时移植到宿主的中部，这样或者不能形成新轴，或者形成一个几乎不具有极性的新轴（图 22.4C；Browne 1909；Newman 1974）。这些实验显示出两个梯度的存在：一个**头部激活梯度**（**head activation gradient**）在垂唇处最高，一个**足部激活梯度**（**foot activation gradient**）在基盘处最高。将不同水平的供体水螅组织环移植到宿主躯干的特定区域，这样可以检测头部激活梯度（Wilby and Webster 1970；Herlands and Bode 1974；Mac-Williams 1983b）。供体组织中的头部激活物水

[3] 即使在今天，Tremblay 对研究人员的建议也是很中肯的：他建议我们直接观察自然现象，避免我们的教育所带来的偏见。而且，“我们不应该因为缺乏成功而感到沮丧，而应该再次尝试任何失败的事情。多次重复一些成功的实验也是好事。所有可能看到的事情还没有被全部发现，而且经常无法在第一次实验中就被发现”（引自 Dinsmore，1991）。

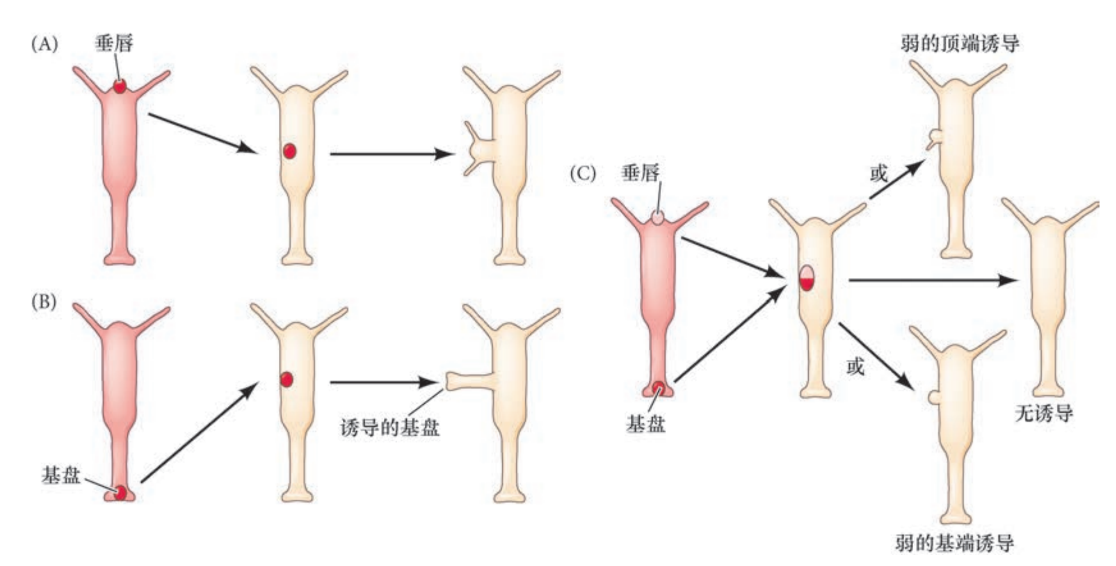


图 22.4　移植实验表明水螅顶 - 基轴的不同区域具有不同的形态发生能力。(A) 垂唇组织被移植到一个宿主的躯干时诱导第二体轴，具有一个延伸的垂唇。(B) 基盘组织被移植到一个宿主的躯干时诱导第二体轴，具有一个延伸的基盘。(C) 如果同时移植垂唇和基盘组织，只能看到微弱（如果有的话）的诱导（参考 Newman 1974）。

平越高，移植物诱导形成新的头部的能力就越大。头部激活因子集中在垂唇，向基盘处呈线性降低。

垂唇作为组织者　Ethel Browne (1909；也见 Lenhoff 1991) 注意到，垂唇作为水螅的“组织者”而发挥作用。这个概念被 Broun 和 Bode (2002) 证实，他们的结果显示：①垂唇被移植后能诱导宿主组织形成第二个体轴；②垂唇产生头部激活信号；③垂唇是水螅中唯一的“自分化”区域；④垂唇也产生一个“头部抑制信号”，抑制新的组织中心的形成。

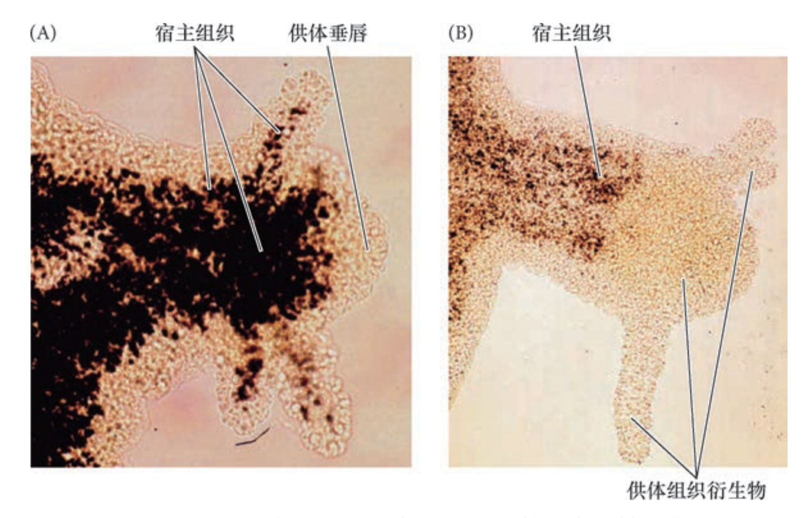
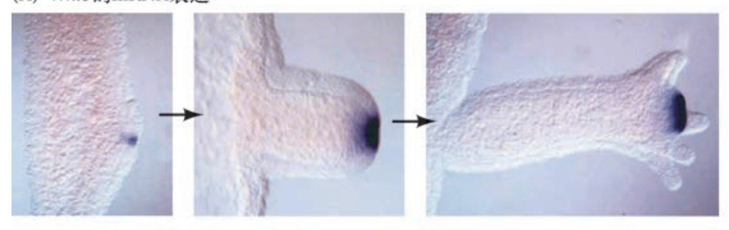


图 22.5　将头部区域移植到水螅的躯干后形成第二个体轴。宿主的内胚层用印度墨染色。(A) 垂唇组织被移植到躯干时诱导宿主的躯干组织变成触手和头部。(B) 下垂唇供体组织被置入宿主躯干时自我分化成头部和躯干上部（来自 Broun and Bode 2002，由 H. R. Bode 提供）。

将一些小块的垂唇组织移植到印度墨（胶体碳）标记的宿主水螅，Broun 和 Bode 发现垂唇能诱导新的体轴，并且几乎所有产生的头部组织都来自宿主组织，而不是来自供体组织的分化（图 22.5A）。相反，如果将其他区域（如下垂唇区域）的组织移植到宿主的躯干，新水螅的头部和躯干则来自移植的供体组织（图 22.5B）。换句话说，只有垂唇区域能够改变躯干细胞的命运，使它们变成头部细胞。Broun 和 Bode 也发现这个信号并不需要来自一个永久性的移植物。即便与垂唇区域的短暂接触也足以诱导宿主水螅形成一个新轴。在这些情况下，新轴的所有组织都来自宿主。

网络话题 22.1　Ethel Browne 和“组织者”　如第 11 章所述，Spemann 和 Mangold 在使用两栖类进行的工作中将“组织者”的概念引入胚胎学，并且 Spemann 的实验室使这一观点成为胚胎学的统一原则。然而有人认为，这个概念实际上源于 Browne 在水螅中开展的实验。

Wnt3 的梯度是诱导物 垂唇组织者中的主要头部诱导物是通过经典 β- 联蛋白途径起作用的一组 Wnt 蛋白（Hobmayer et al. 2000；Broun et al. 2005；Lengfeld et al. 2009；也见 Bode 2009）。这些 Wnt 蛋白表达在早期芽的顶端，在芽延伸时确定了垂唇区域（图 22.6A）。如果 Wnt 信号的抑制物糖原合成酶激酶 -3 在整个体轴受到抑制，异位的触手就会在所有水平上形成，并且躯干的每一段都具有刺激新芽外向生长的能力。类似地，整体错误表达 Wnt 下游效应因子 β- 联蛋白的转基因水螅沿整个体轴形成异位的芽，甚至在新形成的异位芽的顶部也能再出现芽（图 22.6B；Gee et al. 2010）。当垂唇与成体水螅的躯干相接触时，它能以依赖于 Wnt 的方式诱导 *Brachyury* 基因的表达，就像脊椎动物的组织者那样，尽管水螅缺少中胚层（Broun et al. 1999；Broun and Bode 2002）。这些结果充分表明 Wnt 蛋白（尤其是 Wnt3）在水螅的正常发育过程中作为头部“组织者”起作用，但它们在再生过程中是否发挥类似的功能？



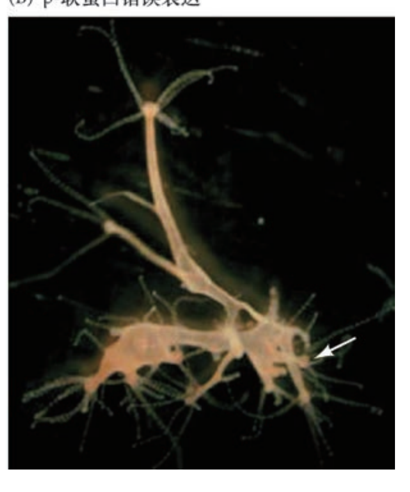


图 22.6 水螅出芽过程中的 Wnt/β- 联蛋白信号。(A) 在早期芽（左）、中期芽（中）、具有早期触手的芽（右）的形成过程中，*Wnt3* 的 mRNA（紫色）在垂唇的表达。(B) 错误表达 β- 联蛋白（下游的 Wnt 效应物）的转基因水螅具有众多的异位芽（包括在其他芽的顶部形成的芽，如箭所示的例子）(A 图来自 Hobmayer et al. 2000，由 T. W. Holstein 和 B. Hobmeyer 提供；B 图来自 Gee et al. 2010)。

拓展性问题

水螅被截断时，是什么启动了 Wnt3 的上调？而且，如果中段和更顶端的截断都会导致 Wnt 激活，那为什么第一种情况触发细胞凋亡，而另一种情况则不会？

水螅中的变形再生和新建再生 当一个水螅的头部被切除时，Wnt 途径在将要形成新的头部的顶端部分被激活。如果截断处紧位于垂唇下部，Wnt3 就会在接近截断面的上皮细胞中被上调，这使已有的细胞被重塑形成头部。在这种情况下没有细胞增殖，因此，它是**变形再生**（**morphallactic regeneration**），即通过细胞转分化来实现再生。然而，如果把水螅从中间截断，间质干细胞来源的细胞（如神经元、刺细胞、分泌细胞和配子）在紧位于截断位置的下部经历凋亡。但是，在死亡之前，这些细胞产生大量的 Wnt3，在它们下部的间质细胞中激活 β- 联蛋白。激增的 β- 联蛋白引起间质细胞的一波增殖及上皮细胞的重塑。这种方式的再生称为**新建再生**（**epimorphic regeneration**，或 **epimorphosis**），即通过细胞去分化来实现再生（Chera et al. 2009）。因此，经典 Wnt 信号在正常的出芽和头部再生中都具有重要的作用。

22.2.3 头部抑制梯度

如果水螅体柱的任何区域都具有形成头部的能力，那么为什么头部的形成只局限在一个特定的位置？Rand 及其同事在 1926 年证明，当一个完整的垂唇被移植到截断面附近时，垂唇的正常再生就会被抑制（图 22.7A）。而且，如果将下垂唇组织（紧位于垂唇下部，头部激活物浓度相对较高的位置）移植到宿主水螅的相同区域，这样就不能形成第二个体轴（图 22.7B）。宿主的头部似乎产生一种抑制物，阻止移

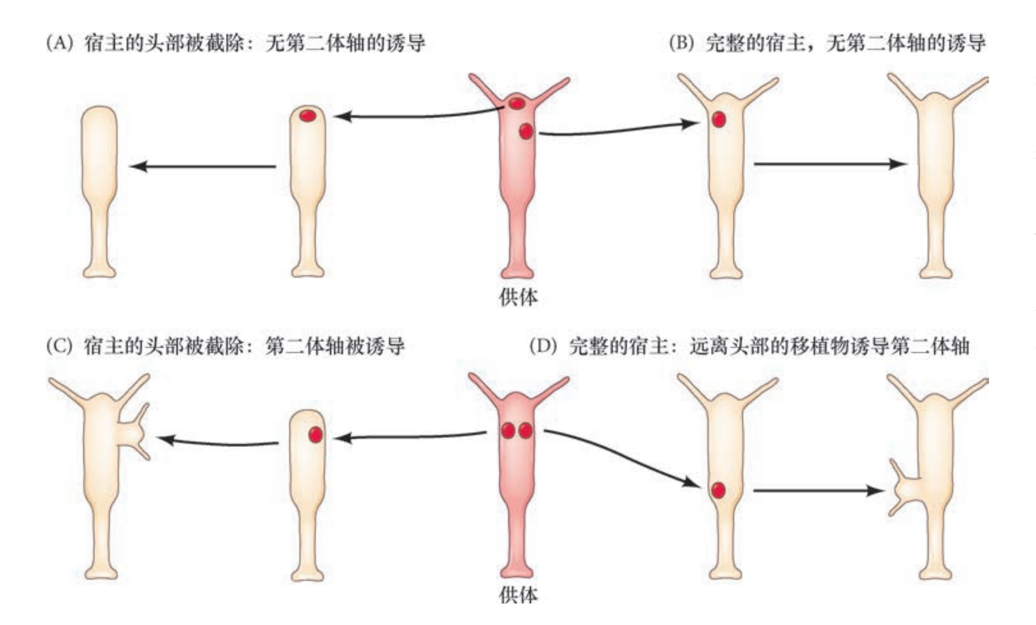


图 22.7　移植实验为头部抑制梯度提供证据。(A) 垂唇组织被移植到截断区域时抑制头部的再生。(B) 下垂唇组织在紧邻宿主头部的位置不能产生新的头部。(C) 下垂唇组织在宿主头部被去除时能产生一个头部。在宿主的头部被截除的位置也形成一个头部。(D) 下垂唇组织被置入远离宿主头部的位置时产生一个新的头部（参考 Newman 1974）。

植的组织形成头部和第二体轴。支持这个假设的证据是，如果将下垂唇组织移植到头部被去除的宿主水螅，这样就能形成第二个体轴（**图 22.7C**）。这种抑制物的梯度似乎从头部向下延伸到体柱，并能通过将下垂唇组织移植到宿主躯干的不同区域来检测。将这个组织置入完整宿主水螅的顶端区域时，它不能形成一个头部（见图 22.7B），但它被移植到宿主的较低位置时则会形成一个头部（**图 22.7D**）。现在还不清楚头部抑制物是什么，但它似乎并不稳定，半衰期只有 2 ～ 3 h（Wilby and Webster 1970；MacWilliams 1983a）。头部抑制物和头部激活物（Wnt）被认为都在垂唇产生，但头部抑制物梯度比头部激活物梯度降低得更快（见 Bode 2011，2012）。因此，头部激活物不受头部抑制物抑制的位置变成出芽带。

但这并不适用于体柱底部 1/3 的位置。是什么阻止了这个位置的细胞形成头部？基端的头部形成似乎被另一种物质阻止，即足部激活物（MacWilliams et al. 1970；Hicklin and Wolpert 1973；Schmidt and Schaller 1976；Meinhardt 1993；Grens et al. 1999）。头部和足部的抑制梯度对于确定一个芽能够形成的时间和位置可能很重要。在年幼的成体水螅中，头部和足部抑制物的梯度似乎阻止芽的形成。然而，随着水螅的生长，这两种不稳定物质的源头离得更远，在躯干下部大约 2/3 处形成了两种抑制物水平都很低的一个组织区域，这就是芽形成的区域（**图 22.8A**；Shostak 1974；Bode and Bode 1984；Schiliro et al. 1999）。

一些水螅突变体的芽形成能力存在缺陷，这些缺陷可以通过抑制梯度的改变来解释。例如，水螅（*Hydra magnipapillata*）的 *L4* 突变体形成芽的速度很慢，只有在体长达到野生型个体大约 2 倍的时候才开

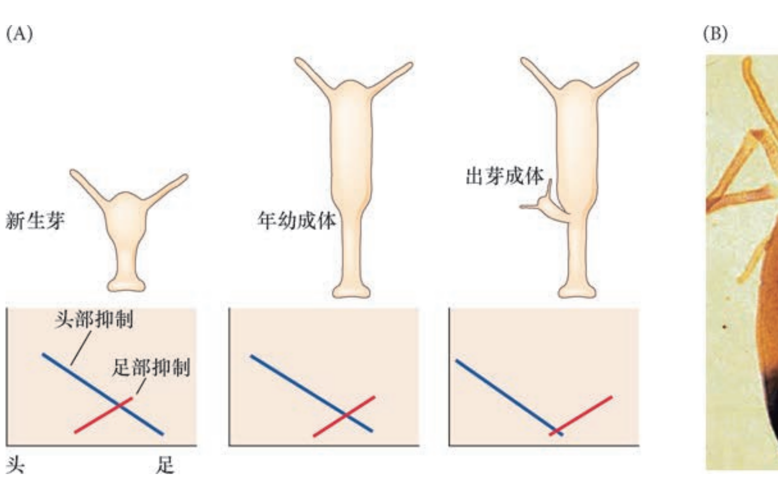




图 22.8　头部和足部抑制梯度决定芽的位置。(A) 新生芽、年幼成体和出芽成体中的头部抑制梯度（蓝色），以及足部抑制梯度（红色）。(B) Shinguard 蛋白在出芽水螅中以梯度的方式表达（A 图参考 Bode and Bode 1984；B 图来自 Bridge et al. 2000）。

始形成芽。在这些突变体中，头部抑制物的水平比野生型个体要高很多（Takano and Sugiyama 1983）。

目前已经发现有多种小肽能够激活足部的形成，研究人员正开始分析这些蛋白质的产生和作用机制（见 Harafuji et al. 2001；Siebert et al. 2005）。然而，从基部区域到体柱的细胞特化可能受酪氨酸激酶的一个梯度所介导。被 *shinguard* 基因编码的一个酪氨酸激酶从紧位于基盘上部的外胚层到躯干的下部区域形成一个梯度。芽似乎在这个梯度逐渐消失的位置形成（**图 22.8B**）。被 *manacle* 基因编码的一个潜在转录因子较早地表达在基盘外胚层，它似乎能激活 *shinguard* 基因（Bridge et al. 2000）。

22.3 扁形动物中干细胞介导的再生

涡虫扁形动物能通过二分裂进行无性生殖，在这个过程中，它们将自身分成两段，使后端从前端分开，然后每一段再生出缺失的部分。在再生过程中，每一片段重新产生组成涡虫的所有细胞类型，如光感受器、神经系统、上皮、肌细胞、肠、咽和生殖腺（见 Roberts-Galbraith and Newmark 2015）。直到最近才证明，能够进行这种再生的细胞也是修复和替代身体部分的多能干细胞。自 18 世纪以来人们就已经知道，当涡虫被切成两半时，就像在无性生殖的那样，头的半部将从伤口处再生出一个尾部，而尾的半部将再生出一个头部（**图 22.9A，B**；Pallas 1766）。然而直到 1905 年，Thomas Hunt Morgan（托马斯·亨特·摩尔根）和 C. M. Child 才认识到这种极性代表了一个重要的发育原理[4]（见 Sunderland 2010）。摩尔根指出，

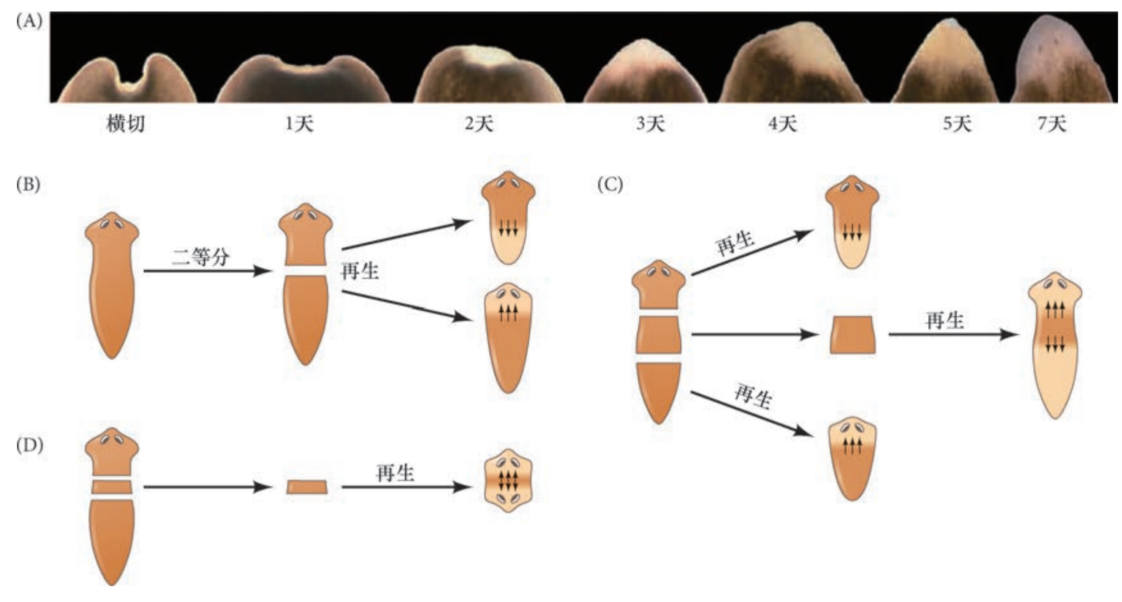


图 22.9 扁形动物的再生及其限制。(A) 头部被截除后涡虫扁形动物再生出一个新头部的时间进程。(B) 如果将涡虫切成两半，下半部的前端再生出一个头部，而上半部的后端再生出一个尾部。相同的组织能产生头部（如果它位于尾段的前部）或尾部（如果它位于头段的后部）。(C) 如果将扁形动物切成三段，中段从前端再生出一个头部，从后端再生出一个尾部。(D) 如果中段太窄，其内部没有明显的形态发生素梯度，再生则变得异常（A 图来自 Gentile et al. 2011；B ～ D 图参考 Gosse 1969）。

袖珍指南

你亲自去观察扁形动物的再生吧！扁形动物很容易获得，当你把它切成两半时，你只是在做这个动物自己也要做的事情。指南中提供了一些如何利用这些神奇动物进行实验的视频和简单说明。

[4] 在 1910 年以前，“果蝇实验室”的摩尔根大师因他对扁形动物的再生研究而闻名。的确，摩尔根在 1900 年才首次描述了果蝇，那是作为他的扁形动物的食物！给扁形动物喂食带有色素的果蝇眼睛，他甚至能使扁形动物的消化管“着色”。后来，在他建立现代遗传学时，摩尔根才放弃了扁形动物作为遗传模型，转而使用果蝇（见 Mittman and Fausto-Sterling 1992）。

如果扁形动物的头部和尾部都被切断，也就是将它三等分，那么中间这一段将从原来的前端再生出一个头部，从原来的后端再生出一个尾部，但绝对不会反过来（图 22.9C）。而且，如果中段薄到一定程度，再生的部分就会变得异常（图 22.9D）。Morgan（1905）和 Child（1905）推测，有一个集中在头部区域的前部形成物质的梯度。这些物质的浓度梯度指令中段如何再生两端。但是，如果中段太窄，它就不能感知到这个梯度。

芽基和成体多能干细胞　关于涡虫再生的一个重要问题是什么细胞形成了新的头部或尾部？现在我们知道，截断后会立即启动损伤应答，从伤口附近的所有细胞中引发相同的“通用”转录反应，无论截断发生在什么位置。然而，在初始的损伤应答之后，随着再生的进行，转录谱变得区域化（Wurtzel et al. 2015）。数十年来，人们认为旧细胞在涡虫的截断位置去分化以形成**再生芽基**（**regeneration blastema**），这是一组相对未分化的细胞，被位于伤口表面的旁分泌因子组织形成一些新结构（见 Baguña 2012）。然而，Wagner 及其同事在 2011 年进行的一系列实验提供了大量的证据表明去分化并没有发生。相反，再生芽基从称为**克隆性未分化细胞**（**clonogenic neoblast，cNeoblast**）的多能干细胞中形成，这是扁形动物的一组多能干细胞，作为干细胞来替代成体的老龄化细胞（图 22.10A；Newmark and Sánchez Alvarado 2000；Pellettieri and Sánchez Alvarado 2007；Adler and Sánchez Alvarado 2015）。

克隆性未分化细胞能迁移到伤口位置，使组织再生。Wagner 及其同事证明，如果使用一定的剂量辐射涡虫，以破坏几乎所有的未分化细胞（分裂细胞比非分裂细胞更容易被辐射杀死，这也是癌症放疗的原理），在某些个体中会有一个克隆性未分化细胞存活下来。这个未分化细胞能形成一些分裂的祖细胞，最终产生所有胚层的细胞类型。这种单细胞应答证明未分化细胞是驻留在成体内的多能细胞，能再生涡虫的所有组织（图 22.10B）。

如果克隆性未分化细胞对再生是必需的，那么它们的完全缺失应该阻止再生。所以，研究人员对涡虫进行辐射，以破坏所有的分裂细胞（图 22.10C）。这些涡虫因为不能进行组织替代而死亡。但是，将一个克隆性未分化细胞移植到被这样辐射的涡虫中，在某些情况下可以恢复这个生物的所有细胞。扁形动物不仅能够存活，它还能分割成更多涡虫，而且这些新涡虫的所有细胞与供体的克隆性未分化细胞具有相同的基因型。这些实验确切地证明了扁形动物的再生是从成体多能干细胞产生新细胞的结果（Wagner et al. 2011）。

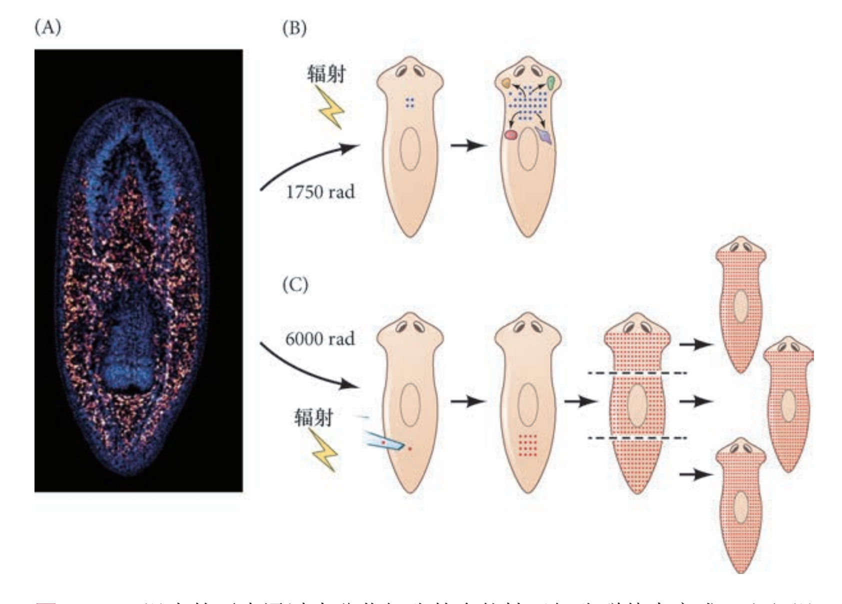


图 22.10　涡虫的再生通过未分化细胞的多能性干细胞群体来完成。（A）涡虫扁形动物（*Schmidtea mediterranea*）中的未分化细胞，用磷酸化组蛋白 -3 的抗体染色。每个多能性未分化细胞在扁形动物中产生一个集落的未分化细胞（红色；细胞核染成蓝色）。这些克隆性未分化细胞在再生的扁形动物中产生分化的细胞。未分化细胞分布在眼后部的整个身体（虽然它们不存在于中央的咽部）。（B）用 1750 rad 的辐射杀死几乎所有的未分化细胞。如果有一个细胞存活下来，一个克隆性未分化细胞能分裂产生一个集落的分裂细胞，这些细胞最终形成器官的分化细胞。（C）用 6000 rad 的辐射去除所有的分裂细胞。从供体品系移植一个克隆性未分化细胞（红色）不仅使生物体产生了所有的细胞类型，也恢复了生物体的再生能力（A 图由 P. W. Reddien 提供；B 图和 C 图参考 Tanaka and Reddien 2011）。

未分化细胞的特化　利用多能干细胞的成体群体来促进涡虫再生提出了几个重要问题：这个群体是异质的，还是像上述克隆研究显示的那样，可能来自单一的多能干细胞群体？而且，一个未分化细胞通过什么过程产生了成体涡虫中大约 30 种细胞类型？细胞特化何时发生？谱系限制性多能

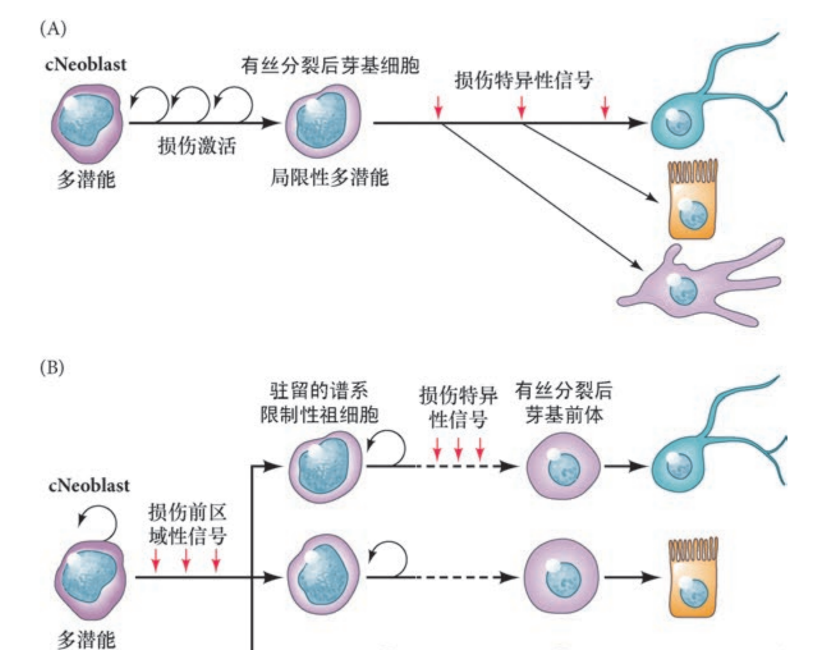


图 22.11 再生过程中克隆性未分化细胞（cNeoblast）特化的两种可能机制。(A) 一种机制是一个多能性未分化细胞产生新的祖细胞，这些细胞形成芽基的局限性多能细胞。(B) 另一种机制是局限性多能祖细胞在整个涡虫中分布，它们的谱系特化依赖于它们所在的位置。这些细胞进行分裂并产生一些向各自命运分化的有丝分裂后芽基细胞。

干细胞是否有可能来自一个克隆性未分化细胞，并在任何损伤之前就分布在整个扁形动物？或者分化的有丝分裂后细胞是否在受伤时直接产生自一个多能性未分化细胞（图 22.11）？

遗传学研究正在解开一些答案。所有未分化细胞都表达 *smed-wi-1* 基因，而且这个基因在所有涡虫物种中已经成为鉴别这些细胞的最常用标志基因（Reddien et al. 2005；Reddien 2013）。多个研究表明，一些未分化细胞表达不同的转录因子，这与涡虫成体中特定的细胞命运相关联，说明生物体中可能存在干细胞群体的谱系特化，用于正常发育和损伤应答（Hayashi et al. 2010；Pearson et al. 2010；Shibata et al. 2012）。为了进一步验证这种可能性，Reddien 的实验室进行了单个未分化细胞在稳态和再生过程中的转录组分析（van Wolfswinkel et al. 2014）。通过这种全面分析，研究人员发现了两种不同的未分化细胞群体，他们将这些细胞命名为 zeta 和 sigma（图 22.12A）。尽管这两种未分化细胞在形态上不能被予以区分，但它们具有一些明确的特征：它们表达不同的基因调控网络，zeta 未分化细胞是有丝分裂后细胞，而 sigma 未分化细胞具有高度的增殖性，也是唯一直接应答损伤的干细胞。在截断时，sigma 未分化细胞（表达 *soxP-2*）产生多种不同类型的细胞（脑细胞、肠细胞、肌细胞、排泄细胞、咽细胞和眼的细胞），以及 zeta 未分化细胞的祖细胞群体。Zeta 未分化细胞（表达 *zfp-1*）直接参与建立其余的表皮细胞类型。通过 RNA 干扰敲减 *zfp-1* 的表达可以获得缺少 zeta 群体的涡虫。当这些涡虫的头部被截断时，除了表皮谱系以外，sigma 未分化细胞能够促进新的头部中所有细胞的再生（图 22.12B，C；van Wolfswinkel et al. 2014）。

这些结果都支持干细胞在再生中至关重要的作用。但是我们仍然有一些未解的问题：特定的细胞类型如何被正确地图式化？扁形动物怎样告诉后端芽基变成尾部而前端芽基形成头部？

头部到尾部极性 如我们在水螅中看到的那样，Wnt 信号似乎对建立差异性细胞命运的极性有主要作用。在水螅中，这个极性受 Wnt/β- 联蛋白信号沿顶 - 基轴的正调节；在涡虫中，Wnt/β- 联蛋白在再生过程中建立前 - 后极性；然而，Wnt 通过 β- 联蛋白促进尾部发育，但却抑制头部再生（Gurley et al. 2008；Petersen and Reddien 2008，2011）。事实上，*Wnt* 基因不在头部表达，这个途径的功能性蛋白可能以尾部到头部的梯度形式存在[5]。

一些实验室通过比较的方法来研究涡虫头部再生过程中极性的调控。有意思的是，一些涡虫物种不具备再生能力。当 *Procotyla fluviatilis* 和 *Dendrocoelum lacteum* 物种的涡虫的头部被去除时，它们不能再

[5] 很有意思的是，尽管 Wnt 信号都用于扁形动物和水螅的再生，但它的作用却有所不同。在扁形动物中，Wnt 指令尾部的形成，头部的形成需要对它进行抑制。在水螅中，Wnt 信号似乎参与建立头部，或者至少是具有口和类似于头的部分（不要因为我们称之为“头”，就把它看成是两侧对称动物面部的同源物。目前对于这个问题仍有争论）。

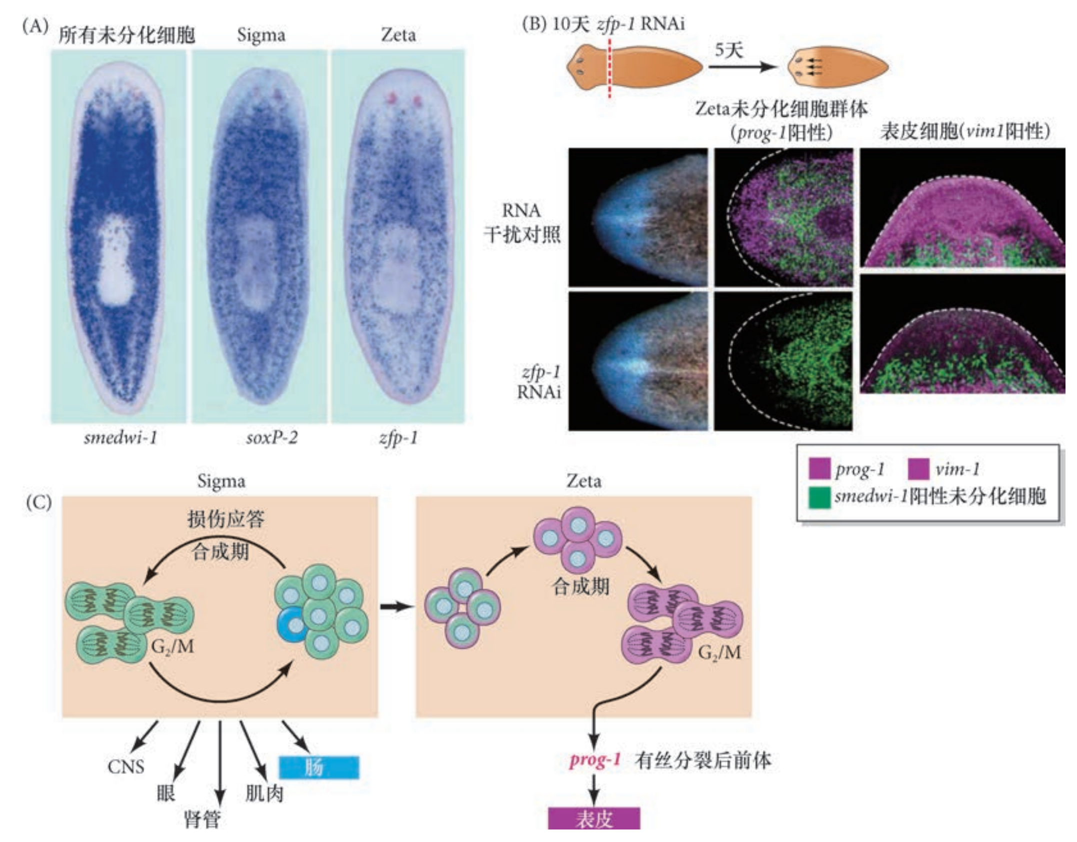


图 22.12　两种不同群体的未分化细胞，其中一种对损伤产生应答。(A) 原位杂交标记（蓝色）所有的未分化细胞 (*smedwi-1*；左图)、sigma 未分化细胞群体 (*soxP-2*；中图) 和 zeta 未分化细胞群体 (*zfp-1*；右图)。(B) 即使没有 zeta 未分化细胞，涡虫的头部仍能很大程度地再生（最左侧，明场照片）。如荧光原位杂交所示，RNA 干扰所导致的 zeta 未分化细胞缺失表现在 *prog-1* 表达的降低（中间照片）。尽管表皮细胞类型（右侧）在没有 zeta 未分化细胞 (*vim-1*，紫色) 的情况下不能完全再生，但其余的未分化细胞（绿色；可能是 sigma 群体）及其衍生细胞类型没有受到影响。(C) 受 sigma 未分化细胞介导的发育和再生模型。这些细胞引导多种细胞类型及 zeta 祖细胞的形成。Zeta 未分化细胞通过 *prog-1* 阳性的有丝分裂后前体状态产生表皮细胞的命运。*zfp-1* RNAi：RNA 干扰 *zfp-1*；G_2/M：合成后期 / 有丝分裂期；CNS：中枢神经系统 (A 图和 B 图来自 van Wolfswinkel et al. 2014；C 图参考 van Wolfswinkel et al. 2014)。

生出头部。研究人员将这种差异视为一个机遇，可用来鉴别一些对具有再生能力的涡虫物种（如 *Dugesia japonica*）至关重要的基因。通过比较来自具有再生能力的物种和再生缺陷型物种的前端芽基细胞的转录组，人们发现，代表高活性 Wnt/β- 联蛋白信号的一些基因仅在再生缺陷型涡虫的再生芽基中出现上调 (Sikes and Newmark 2013)。最为显著的是，在再生缺陷型物种中抑制 Wnt/β- 联蛋白信号能产生功能完整的再生头部（图 22.13；Liu et al. 2013；Sikes and Newmark 2013；Umesono et al. 2013）。这些结果显示 Wnt 信号在再生过程中对头部特化的抑制性作用。在再生的涡虫中，β- 联蛋白在后端芽基中被激活（通过 Wnt），这产生一个尾部。如在脊椎动物的发育中一样，涡虫再生的前部极性依赖于 Wnt 信号的抑制，这将阻止 β- 联蛋白的积累，进而促进头部的形成。如果用 RNA 干扰的方法敲减后端（尾部形成）芽基的 β- 联蛋白，那么这个芽基将形成一个头部（图 22.14A ～ C）。的确，用 RNA 干扰将再生缺陷型涡虫的 β- 联蛋白完全敲除时，整个生物体都变成了头部，周围都具有眼 (Gurley et al. 2008；Iglesias et al. 2008)。

Wnt 对前端细胞特化的抑制性影响是什么？或者，前端细胞如何避免自身受到 Wnt 信号的影响？在第 4 章，我们讨论过一种称为 Notum 的 Wnt 抑制物（见图 4.33），它在涡虫中特异地表达在头部的顶端，与后端表达的 Wnt 相反。Notum 在芽基前端的表达被上调（图 22.15）。所以，Notum 在再生缺陷型物种中的表达被下调就不足为奇 (Lui et al. 2013)。此外，对再生涡虫的芽基进行转录组分析发现，在 4401 个

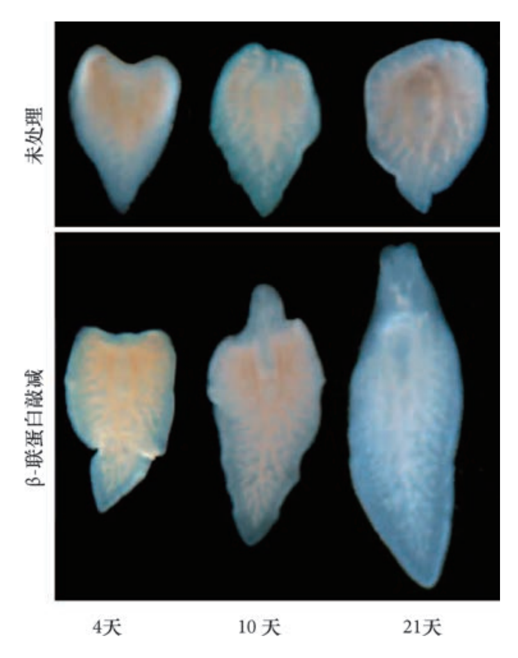


图 22.13 在乳涡虫（*Dendrocoelum lacteum*）中敲低 β- 联蛋白恢复头部的再生。这种不具有再生能力的扁形动物被截断后不能再生一个头部（上排）。然而，如果用 RNA 干扰的方法敲减 β- 联蛋白（下排），这种涡虫在被截断的 21 天内就能再生出它的头部（来自 Liu et al. 2013）。

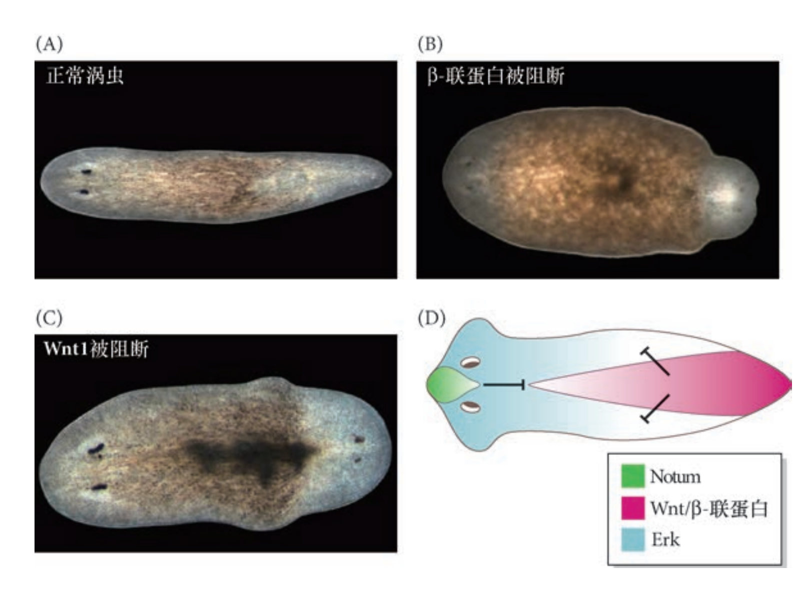


图 22.14 涡虫再生的极性。(A) 一般来说，Wnt 表达在后端芽基，促使尾部形成。如果使用 RNA 干扰敲减 β- 联蛋白 (B) 或 Wnt1 (C) 信使以阻断 Wnt 途径，后端芽基再生出一个头部，从而形成一个两端都有头部的涡虫。(D) 通过胞外信号调节激酶 (Erk)、Notum 和 Wnt 这三个信号的相互作用建立前 - 后极性的模型。后部的 Wnt 促进尾部的特化，但抑制头部的特化。Wnt 抑制前端的胞外信号调节激酶这个头部诱导物。Notum 的拮抗作用限制 Wnt 信号在头部最前端区域的激活（A ~ C 图来自 Reddien 2011，照片由 D. Reddien 提供）。

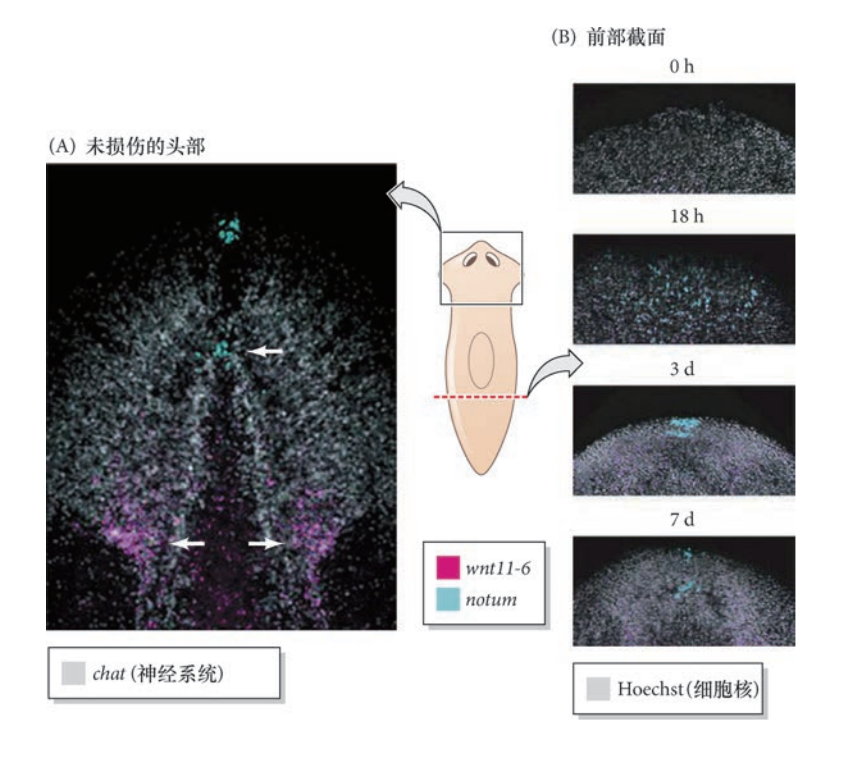


图 22.15 Wnt 和 Notum 在涡虫头部 (A) 和前端芽基 (B) 的表达。在未受损伤的头部和芽基，Notum 表达在最前部区域的中线细胞。中间的图例表示 (A) 图中扁形动物照片的区域以及 (B) 图中尾部截断的位置。*Chat* 是神经系统细胞的标志物基因；Hoechst 标记所有的细胞核（来自 Hill and Petersen 2015）。

拓展性问题

前部和后部信号系统之间相互作用的很多细节问题还不清楚。例如，胞外信号调节激酶信号是否正调节 *Notum* 基因的表达？此外，尽管目前的很多工作都集中在经典 Wnt/β-联蛋白信号途径的作用，但非经典 Wnt 信号途径早已被证明能影响细胞和组织极性。如果有的话，非经典 Wnt 信号途径在涡虫再生中的作用是什么？

基因中只有一个基因在芽基的前端和后端之间差异性地表达！这个基因就是 Notum，它只表达在前端芽基（Wurtzel et al. 2015）。如果 Notum 的表达被敲减，使过多的 Wnt 变得功能性活跃，前端芽基将会形成尾部

(Petersen and Reddien 2011)。这些结果充分说明，前端表达的 Notum 拮抗后端产生的 Wnt，从而促进头部的特化。也有研究提出，Wnt 和 Notum 信号之间平衡的调节不仅参与头部到尾部的特化，也影响器官的大小 (Hill and Petersen 2015)。此外，胞外信号调节激酶信号的前 - 后梯度似乎是头部特化的正诱导物。Wnt 信号通过抑制胞外信号调节激酶来实现它对头部再生的抑制。因此，只有在缺少 Wnt（由于 Notum 的抑制性作用）的更前端区域，胞外信号调节激酶才能诱导头部再生（图 22.14D；Umesono et al. 2013）。

科学家讲座 22.1　Alejandro Sánchez Alvarado 博士在这个短片中描述干细胞对涡虫再生的作用。

22.4　蝾螈：肢的新建再生

当一个成体蝾螈被截肢时，剩余的肢细胞重新构建一个新的肢，使所有的分化细胞按照适当的顺序排列。值得注意的是，肢仅再生出缺失的结构，不会产生更多的部分。例如，当肢在腕处被截断时，蝾螈形成一个新的腕部和足，但不会长出一个新的肘部。在某种程度上，蝾螈的肢“知道”近 - 远轴上被截断的位置，并能够从这个位置开始再生（图 22.16）。

蝾螈通过细胞去分化而形成一个**再生芽基**（**regeneration blastema**）来完成新建再生，在这种情况下，来自初始分化组织的一团相对未分化细胞进行增殖，重新分化成新的肢部分（图 22.17；见 Brockes and Kumar 2002；Gardiner et al. 2002；Simon and Tanaka 2013）。紧位于截肢部位下方的骨骼、真皮、软骨，以及来自邻近肌细胞的卫星细胞都参与再生芽基的形成 (Morrison et al. 2006)。因此，不同于扁形动物利用成体多能干细胞形成再生芽基，蝾螈肢的大部分再生芽基似乎来自成体细胞的去分化，这些细胞进行分裂和再分化而返回到它们的初始细胞类型[6]。

22.4.1　顶端表皮帽和再生芽基的形成

蝾螈被截肢后会形成一个血浆凝块。在 6 ～ 12 h 内，表皮细胞从残余部分迁移，包裹伤口表面，形成**创伤表皮**（**wound epidermis**）。与哺乳动物伤口愈合不同，蝾螈不形成瘢痕，真皮也不随表皮细胞一起运动而覆盖截断部位。支配肢的神经在离截断面近端的短距离内退化（见 Chernoff and Stocum 1995）。

在接下来的 4 天内，创伤表皮下部组织的细胞外基质被蛋白酶降解，释放出一些经历显著去分化的单个细胞：骨细胞、软骨细胞、成纤维细胞和肌细胞都失去了它们的分化特征。在分化组织中表达的基因（如肌细胞表达的肌调节因子 -4 和成肌因子 -5 的基因）都受到下调，而与胚胎肢中增殖性渐进带间充质相关的一些基因（如 *msx1*）的表达则显著上调 (Simon et al. 1995)。这个细胞团就是再生芽基，这些细胞将继续增殖并最终进行再分化而形成肢新的结构（图 22.18；Butler 1935）。而且，在此期间，创伤表皮增厚（见图 22.17B），形成**顶端表皮帽**（**apical epidermal cap，**

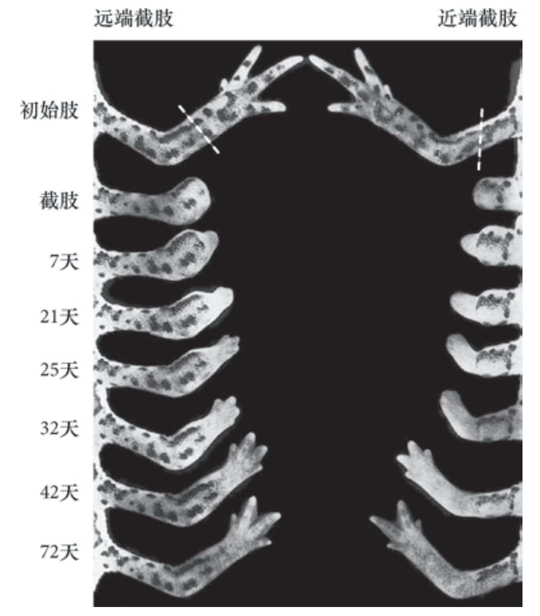


图 22.16　蝾螈前肢的再生。显示在左侧的截肢位于肘部下方；显示在右侧的截肢位于肱骨。在这两种情况下，正确的位置信息被重新特化，一个正常的肢在 72 天内再生出来（来自 Goss 1969，由 R. J. Goss 提供）。

[6] 关于这是否是有丝分裂后细胞的“真正”去分化，或者是否大部分肢芽基来自未定型干细胞的激活，仍然存在争议（见 Nacu and Tanaka 2011）。

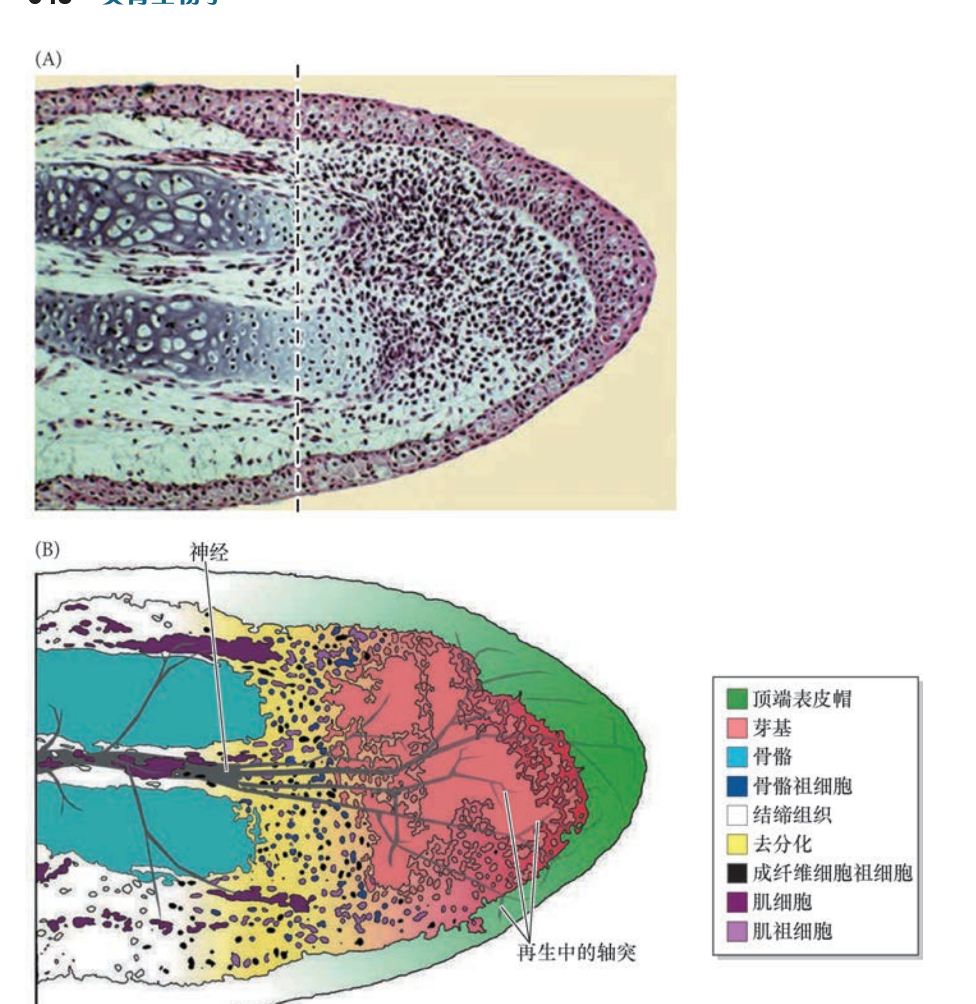


图 22.17 肢芽基的解剖结构。(A) 截肢（虚线处）后再生中的蝾螈肢纵切面，用苏木精和曙红染色。(B) 截肢中不同细胞和组织成分的艺术再现。一个称为顶端表皮帽（绿色）的外部表皮增厚覆盖伤口。切割平面的近端是肌肉（紫色）、骨骼（浅蓝色）、神经（深灰色）和结缔组织（白色）在截肢前已有的分化组织。一旦伤口被覆盖，来自远端顶部的已有组织经历去分化（黄色区域），为每种组织类型产生特化的谱系限制性祖细胞（肌祖细胞，浅紫色；骨骼祖细胞，靛蓝色；成纤维细胞祖细胞，黑色；再生中的轴突，从近端到远端渐变的灰色）。这些祖细胞在顶端表皮帽的下部形成一团增殖性细胞，组成再生芽基（红色）(A 图来自 Simon and Tanaka 2013)。

AEC)，它与肢正常发育过程中的外胚层顶嵴有类似的作用（见第 19 章；Han et al. 2001）。

因此，在残余部分的切缘位置，之前具有完整结构的肢区域形成一个没有明显特征的细胞所组成的增殖性团块，紧位于顶端表皮帽的下部。再生的一个主要问题是细胞是否保留了它们曾经是什么的“记忆”。也就是说，新的肌细胞来自原来的肌细胞的去分化，还是芽基的任何一个细胞都能变成肌细胞？ Kragl 及其同事 (2009) 发现，芽基并不是一组均质和完全去分化的细胞。相反，在墨西哥蝾螈的再生肢中，新的肌细胞仅来自旧的肌细胞、新的真皮细胞仅来自旧的真皮细胞、新的软骨只能由旧的软骨或旧的真皮细胞形成。因此，芽基并不是一组未特化的局限性多能祖细胞。相反，这些细胞保留了它们的特化，芽基是一些受限的祖细胞所组成的一个异质性混合体。

Kragl 及其同事 (2009) 将表达绿色荧光蛋白的蝾螈肢组织移植到不具有绿色荧光蛋白转基因的野生型蝾螈肢的不同区域（图 22.19)。如果表达绿色荧光蛋白的蝾螈肢软骨被移植到不具有绿色荧光蛋白转基因的蝾螈肢，表达绿色荧光蛋白的软骨将正常地整合到肢骨骼。之后，他们在含有绿色荧光蛋白标记的软骨细胞区域进行截肢。在这种情况下，芽基含有表达绿色荧光蛋白的细胞，并且在芽基分化时，只有肢软骨含有表达绿色荧光蛋白的细胞。类似地，在再生的肢中，绿色荧光蛋白标记的肌细胞只形成肌细胞，而绿色荧光蛋白标记的表皮细胞仅形成表皮。

22.4.2 芽基细胞的增殖：对神经和顶端表皮帽的需求

再生芽基的生长依赖于顶端表皮帽和神经。顶端表皮帽通过分泌成纤维细胞生长因子 -8 而刺激芽基的生长（与外胚层顶嵴对肢的正常发育一样），但顶端表皮帽只有在神经存在的情况下才能发挥作用 (Mullen et al. 1996)。感觉轴突和运动轴突都支配芽基，感觉轴突与顶端表皮帽直接接触，而运动轴突则

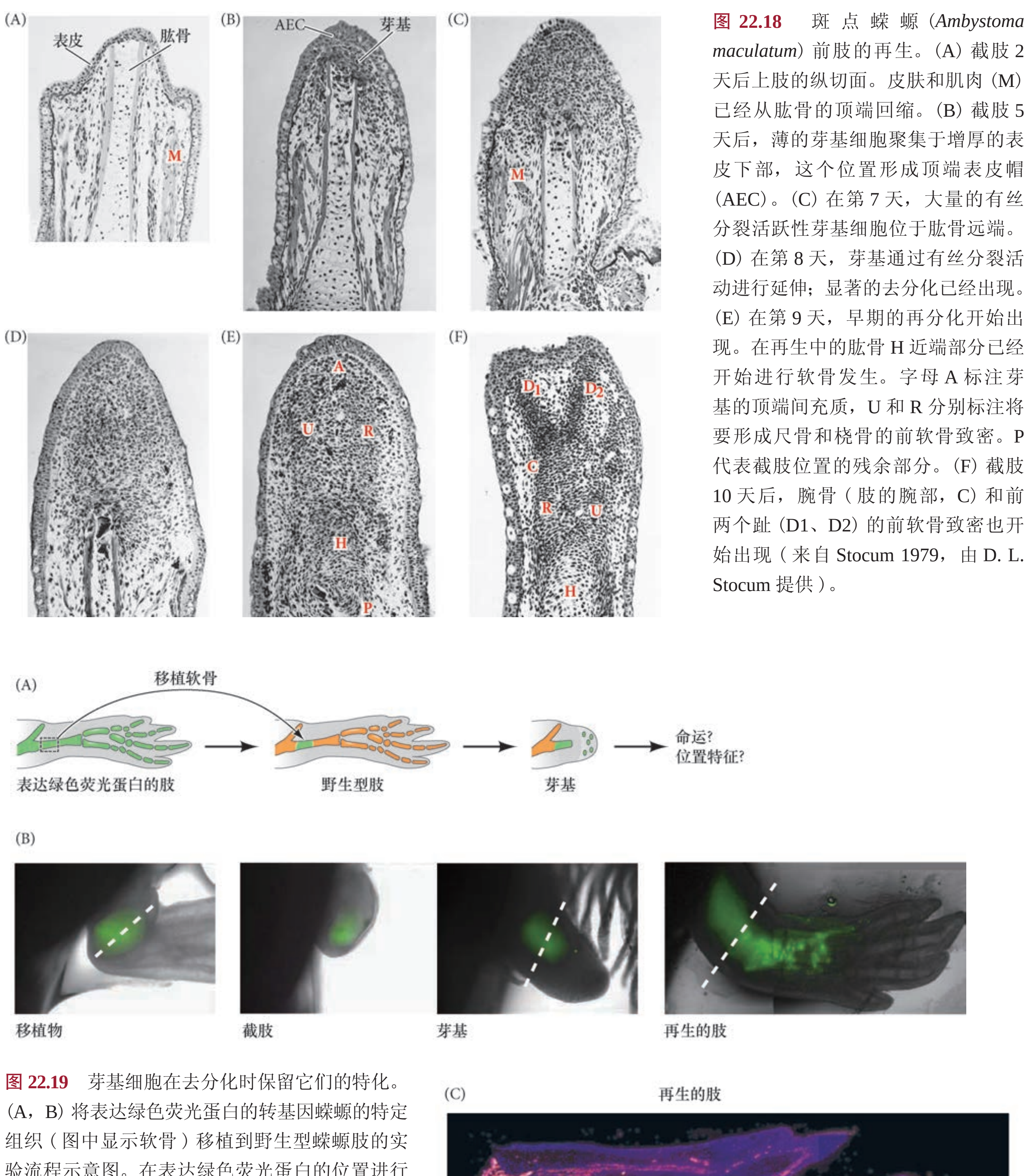


图 22.18 斑点蝾螈（*Ambystoma maculatum*）前肢的再生。(A) 截肢 2 天后上肢的纵切面。皮肤和肌肉（M）已经从肱骨的顶端回缩。(B) 截肢 5 天后，薄的芽基细胞聚集于增厚的表皮下部，这个位置形成顶端表皮帽（AEC）。(C) 在第 7 天，大量的有丝分裂活跃性芽基细胞位于肱骨远端。(D) 在第 8 天，芽基通过有丝分裂活动进行延伸；显著的去分化已经出现。(E) 在第 9 天，早期的再分化开始出现。在再生中的肱骨 H 近端部分已经开始进行软骨发生。字母 A 标注芽基的顶端间充质，U 和 R 分别标注将要形成尺骨和桡骨的前软骨致密。P 代表截肢位置的残余部分。(F) 截肢 10 天后，腕骨（肢的腕部，C）和前两个趾（D1、D2）的前软骨致密也开始出现（来自 Stocum 1979，由 D. L. Stocum 提供）。

图 22.19 芽基细胞在去分化时保留它们的特化。(A，B) 将表达绿色荧光蛋白的转基因蝾螈的特定组织（图中显示软骨）移植到野生型蝾螈肢的实验流程示意图。在表达绿色荧光蛋白的位置进行截肢，这样形成的芽基含有原来是软骨前体的绿色荧光蛋白表达细胞。在再生形成的肢中分析绿色荧光蛋白表达细胞是否仅存在于再生形成的软骨组织，或者也存在于其他组织。图 (B) 的虚线指示截肢位置。(C) 截肢 30 天后再生形成的肢纵切面。肌细胞被染成红色；细胞核被染成蓝色。大部分表达绿色荧光蛋白的细胞（绿色）存在于再生形成的软骨；肌肉没有表达绿色荧光蛋白的细胞（参考 Kragl et al. 2009，由 E. Tanaka 提供）。

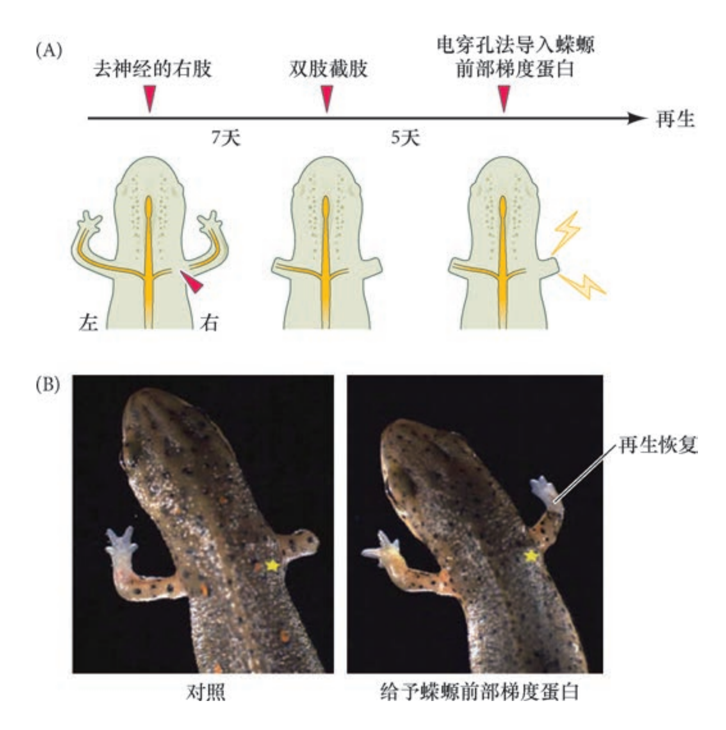


图 22.20　蝾螈肢的再生依赖于蝾螈前部梯度蛋白（通常由肢神经提供）。(A) 实验过程示意图。肢在去神经 7 天后被截断。再过 5 天后，蝾螈前部梯度蛋白通过电穿孔法导入肢芽基。(B) 结果表明，在去神经的对照组（不给予蝾螈前部梯度蛋白），被截断的肢（黄色五角星）仍是一个残余部分。给予蝾螈前部梯度蛋白的肢再生出具有正确近 - 远端极性的组织（参考 Yin and Poss 2008，图由 K. Poss 提供）。

终止于芽基间充质（见图 22.17B）。Singer 及他人证明，必须有一定数量的感觉或运动神经纤维才能使再生得以进行（Todd 1823；Sidman and Singer 1960；Singer 1946，1952，1954；Singer and Craven 1948）。最重要的是，进行再生的神经对芽基的增殖和外向生长是必需的。如果肢首先被去神经、然后被截肢，再生将不会发生（图 22.20）。如果伤口位于肢近端的表皮，然后将神经转向伤口区域，一个芽基样的芽将会形成，但不会产生一个完全再生的肢。如果要诱导出完整的异位肢，不仅需要将神经转向伤口区域，也需要将来自对侧肢（从后到前的位置）的表皮移植物置入伤口位置附近（图 22.21；Endo et al. 2004）。这些结果表明，在肢的正常再生过程中，进行再生的神经向顶端表皮帽传递一些重要的信号。但是，这些结果也说明来自神经的信号不足以促使异位的肢生长；这种生长需要来自表皮的一些位置信息，而这些位置信息不同于伤口部位自身的位置信息（见 Yin and Poss 2008；McCusker and Gardiner 2011，2014）。

前部梯度蛋白　如我们在第 15 章所讨论，靶细胞的神经活动对突触成熟和神经元存活是必需的。因此，最初有假设认为，神经活动可能是肢再生的必要刺激物。然而，一些实验表明，神经传导（动作电位和乙酰胆碱的释放）对促使肢再生不是必需的（Sidman and Singer 1951；Drachman and Singer 1971；Stocum 2011）。如果神经活动不是必需的，那么再生中的轴突为肢的芽基提供了什么？这些神经元被认为能释放一些对芽基细胞增殖所需的因子（Singer and Caston 1972；Mescher and Tassava 1975）。有很多候选物能作为来自神经的芽基有丝分裂原，但最可能的候选物是**蝾螈前部梯度蛋白**（**newt anterior gradient protein，nAG**）。这个蛋白质能使体外培养的芽基细胞进行增殖，还能使去神经的肢进行正常再生（见图 22.20；Kumar et al. 2007a）。如果用电穿孔法将活化的蝾螈前部梯度蛋白的基因导入去神经的截断肢的去分化组织，肢便能够再生。如果不给予蝾螈前部梯度蛋白，肢便仍是一个残余部分。此外，蝾螈前部梯度蛋白在正常的肢中仅有微弱表达，但是在截肢的 5 天内，它在进行再生的轴突周围的施万细胞中受到诱导。

对蝾螈前部梯度蛋白所具有的刺激性作用的进一步支持来自无神经肢的研究。在这个实验中，两个蝾螈胚胎以联体的方式被联结在一起，使它们在相似的条件下存活。然后将其中一个蝾螈的神经管去除。两个蝾螈都存活下来，并长出所有的肢，但缺失神经管的蝾螈肢中不具有神经，完全没有神经支配。基于之前对于去神经的肢不能再生的发现，人们可以推测这些无神经的肢在被截肢后同样不能再生。但引人注目的是，这些无神经的肢的确能够再生。当研究人员在正常的肢、去神经的肢及这些无神经的肢中比较蝾螈前部梯度蛋白的表达时，他们发现，在无神经的肢中，只有表皮具有高水平的蝾螈前部梯度蛋白（图 22.22A；Kumar et al. 2011）。此外，在截肢时，蝾螈前部梯度蛋白的水平首先在正常肢的神经鞘中升高，但在无神经的肢中分布在整个芽基（图 22.22B）。这些结果表明，蝾螈前部梯度蛋白是参与神经依赖性再生的主要有丝分裂原。蝾螈前部梯度蛋白的受体——Prod1，已经被鉴别出来，它在蝾螈肢中以

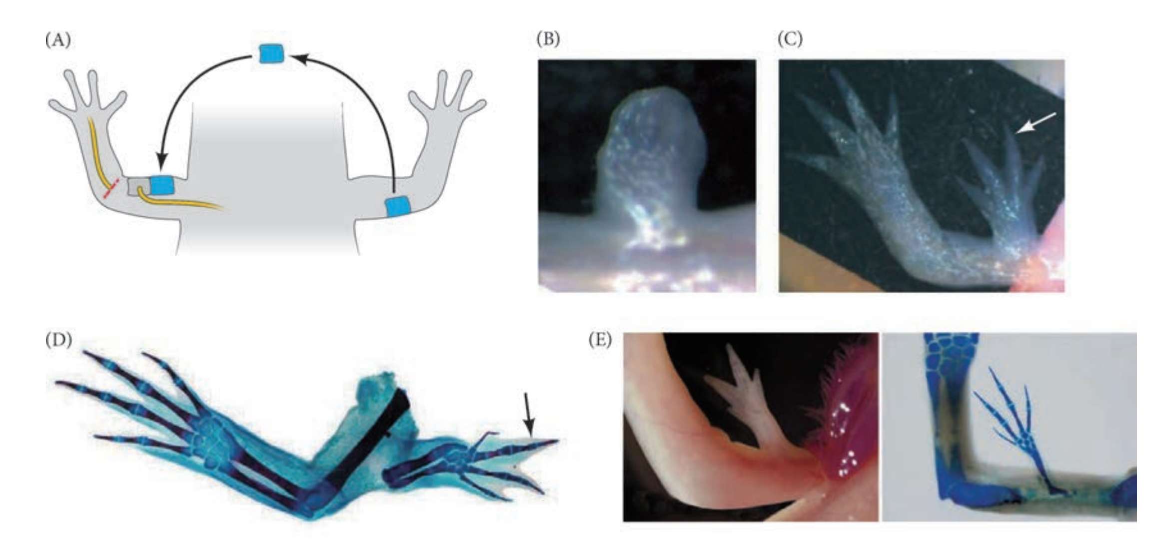


图 22.21　蝾螈中异位肢的诱导。(A) 实验示意图显示神经被转向肢表皮的伤口部位（灰色方形），以及来自对侧肢后部的表皮皮肤移植物被置入伤口部位附近（蓝色方形）。(B，C) 这个实验结果显示，一个肢芽基被诱导出来 (B)，它随后发育成一个完整的肢 (C；箭所示)。(D) 再生的额外肢（箭所示）具有正常的图式，如阿尔新蓝染色的软骨成分所示。(E) 仅将含有骨形态发生蛋白 -2（或骨形态发生蛋白 -7) 和成纤维细胞生长因子 -2/8 的珠子置入肢的伤口位置也能诱导出额外的肢 (A ～ D 图来自 Endo et al. 2004；E 图来自 Makanae et al. 2014)。

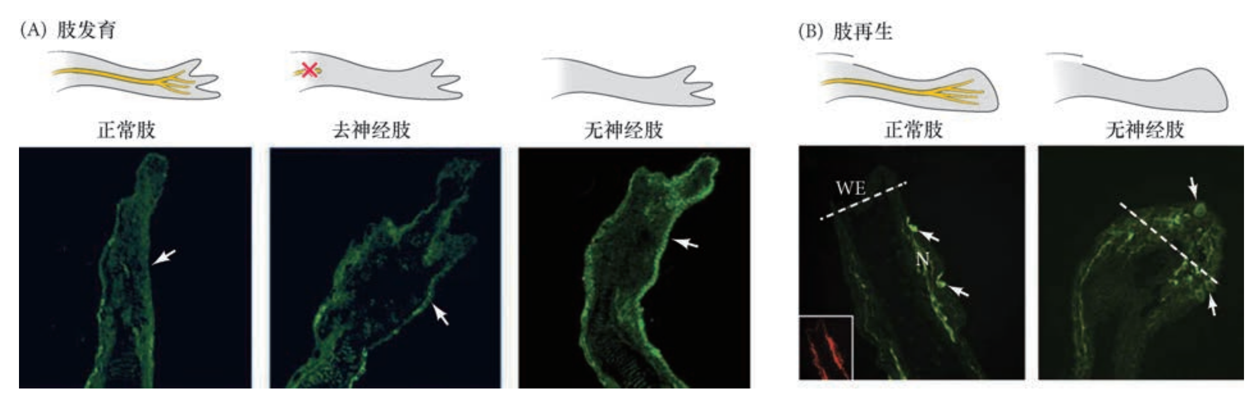


图 22.22　蝾螈前部梯度蛋白在无神经蝾螈肢的差异性表达。(A) 在发育过程中，蝾螈前部梯度蛋白（绿色）在正常和去神经的肢中表达在一小部分表皮细胞，但在无神经肢的整个表皮中高度上调。箭指示表皮。(B) 截肢前的肢示意图。下方的图显示再生的肢，白色虚线表示截肢面；伤口表皮 (WE) 位于这个线的远端。在肢的正常再生中，蝾螈前部梯度蛋白仅在再生神经 (N) 的鞘细胞中被上调；插图是同一图中神经微丝（红色）的低倍视图。在进行再生的无神经肢中，蝾螈前部梯度蛋白在整个肢芽基中上调（来自 Kumar et al. 2011)。

近 - 远端梯度的方式表达 (Morais et al. 2002；Kumar et al. 2007a，b)。这种配体 - 受体关系在具有再生能力的蝾螈物种中似乎都是保守的 (Geng et al. 2015)。

如上所述，蝾螈肢沿前 - 后轴再生的规则似乎与正常发育过程中形成肢的规则相似。的确，参与肢发育的反向视黄酸 - 成纤维细胞生长因子梯度最初被推测沿着这个轴参与肢结构的再生 (Crawford and Stocum 1988)。再生形成的肢在大小和图式上都取决于截肢的近 - 远端位置，这使得肢只能再生出截断处远端的组织，以正确的图式对缺失的部分进行替代。除了视黄酸和成纤维细胞生长因子之外，还有哪些因子参与调控这种图式的形成？很多不同的信号分子也参与肢的再生，包括 Wnt、骨形态发生蛋白、Hedgehog 和 Notch (Satoh et al. 2015；Singh et al. 2015)。目前尚不清楚这些分子的作用。一些分子会产生奇怪的再生图式。例如，再生中的蝾螈肢受视黄酸处理时，无论在哪个位置截肢，芽基都会重编程以形成一个具有所有近 - 远端结构的完整肢 (Maden 1983；Niazi et al. 1985；McCusker et al. 2014)。另外，如

果将含有骨形态发生蛋白或骨形态发生蛋白与成纤维细胞生长因子组合的珠子置入蝾螈肢的伤口位置，这样就会形成一个额外的肢（见图 22.21E；Makanae et al. 2014）。

网络话题 22.2 **再生的轴向** 新建再生的现象可以被正式视为截肢损伤的组织中重建连续性的事件。截肢的残余部分如何知道应该从截断处开始再生，而不是从肩处开始再生出一个完整的新臂（肢）？它怎样构建出与残余部分相同的背 - 腹轴？

拓展性问题

肢只能再生截除的远端组织，这说明蝾螈肢中存在重要的位置信息，在再生过程中为细胞命运的图式化提供指令。然而，视黄酸处理、来自对侧位置的表皮移植物，或者骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子信号能在通常不会发生的位置诱导不同类型的生长。位置信息的关键成分是什么？这种位置信息在再生过程中如何能够被维持和解读？

22.5 诱导斑马鱼器官再生的机制

本章到目前为止，我们已经讨论了各种再生机制，例如，水螅的变形再生、涡虫中多能干细胞的重新部署，以及蝾螈芽基中优雅的新建再生。接下来，我们将通过斑马鱼（*Danio rerio*）的器官再生来拓展我们对这些再生过程的认识。由于斑马鱼具有再生能力，以及遗传和技术优势，已被越来越多地用于研究器官的再生。最值得注意的是，它已经被用于研究鳍、心脏、中枢神经系统、眼、肝、胰腺、肾、骨骼和感觉毛细胞再生的分子调节（Shi et al. 2015；Zhong et al. 2015）。下面我们重点介绍斑马鱼的鳍和心脏再生研究所提供的一些认知。

Wnt 对鱼鳍的作用 斑马鱼的尾鳍沿背部到腹部的轴而扇出，具有 16 ～ 18 个分节的骨质性鳍条，被鳍条间组织分开。鳍的再生能力非常强大且易于获取，因此通过剪尾鳍进行分子分析是大多数斑马鱼研究实验室的常规操作。鳍条主要由骨骼组成，但也有多种其他细胞类型，包括成纤维细胞、血管、神经和色素细胞。与蝾螈的肢一样，斑马鱼的鳍条被截断后首先通过形成顶端表皮帽的表皮细胞覆盖伤口，多数组织类型进行去分化、增殖及远端迁移，以建立一个芽基（Knopf et al. 2011；Stewart and Stankunas 2012）。在没有任何定型的骨骼细胞的情况下，一些未被鉴别的驻留干 / 祖细胞能产生成骨细胞，参与芽基的形成（Singh et al. 2012）。

再生过程中的鳍可被分成四个基本部分（图 22.23）：①非增殖性成纤维细胞组成的远端芽基；②增殖性近端芽基组成去分化间充质的主要部分；③分化中的近端芽基在外向生长中将分化细胞添加到已有的和新形成的组织；④侧围的表皮层在整个再生过程中作为复杂的信号中心。尽管代表鳍再生特征的远端外向生长看似简单，但是这个过程的分子调控却非常复杂，并且涉及所有已知在胚胎发育过程中起作用的信号途径。在这里，我们只关注 Wnt/β- 联蛋白信号途径，它似乎是揭示鳍条再生图式的第一个“多米诺骨牌”（见 Wehner and Weidinger 2015 综述）。Wnt/β- 联蛋白途径在远端芽基和近端增殖性芽基的最外侧部分具有活性，而近端增殖性芽基建立成骨细胞的祖细胞和角质鳍条（鳍的纤维成分；见图 22.23）。Wnt/β- 联蛋白信号的功能缺失和获得分别导致芽基增殖及再生速度的降低和增加（Kawakami et al. 2006；Stoick-Cooper et al. 2007；Huang et al. 2009；Wehner et al. 2014）。Weidinger 的实验室证明，在整个鳍芽基或只在侧部祖细胞区错误表达 β- 联蛋白的抑制物——Axin1，导致鳍条数量的明显减少及鳍条的骨化缺陷（图 22.24；Wehner et al. 2014）。然而，Wnt/β- 联蛋白似乎通过调节其他促有丝分裂调节物而间接地发挥作用，如 Hedgehog 蛋白（Sonic hedgehog 和 Indian hedgehog）、成纤维细胞生长因子 -8、视黄酸和胰岛素样生长因子（见图 22.23B）。

新建再生、补偿和转分化：问题的核心 斑马鱼具有一个相对简单的管状心脏。静脉血液进入静脉窦，前往单心房，被泵入单心室，并通过动脉球流出心脏。多种不同的损伤模型，包括手术切除部分心肌、冷冻损伤和遗传诱导的组织特异性去除，已被用于研究斑马鱼心脏组织的再生（Shi et al. 2015 综述）。斑

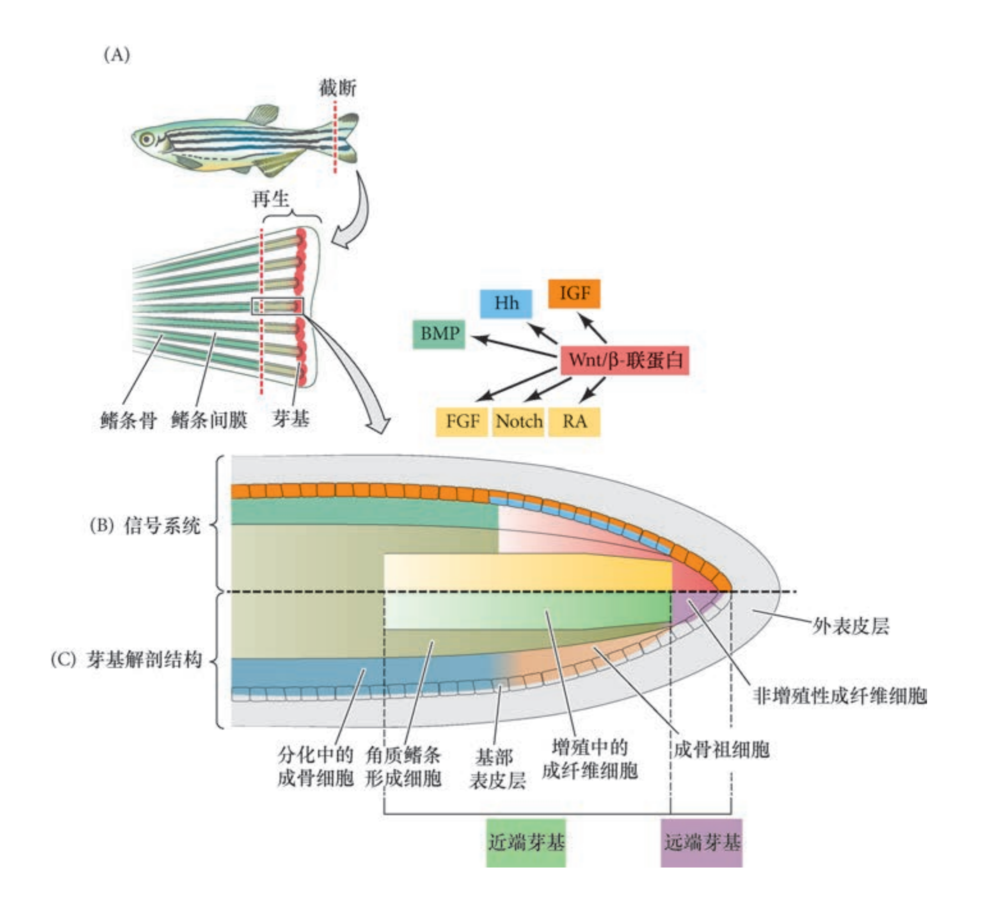


图 22.23　斑马鱼鳍条的再生。(A) 成体斑马鱼的尾鳍被截断（虚线）后能够进行再生。尾鳍的放大视图描述鳍条骨、鳍条间膜和再生的组织（芽基）。(B，C) 再生形成的鳍条纵切面示意图。(B) 示意图的上半部分显示各种信号途径发挥作用的空间区域，所有这些信号途径似乎都在经典 Wnt 信号下游起作用。(C) 示意图的下半部分表示参与再生的不同细胞区室，如正文所述。右侧为远端，左侧为近端。BMP：骨形态发生蛋白；Hh：Hedgehog；IGF：胰岛素样生长因子；FGF：成纤维细胞生长因子；RA：视黄酸（A 图参考 Shi et al. 2015；B 图和 C 图参考 Wehner and Weidinger 2015）。

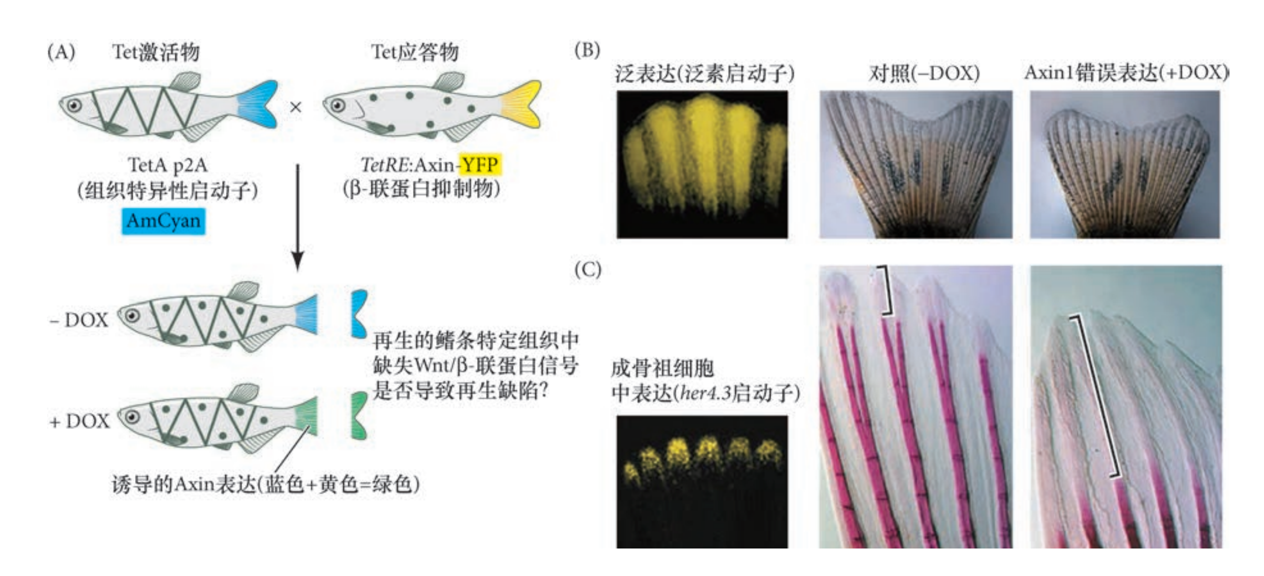
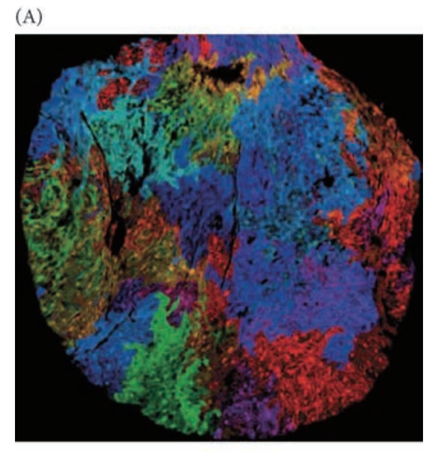


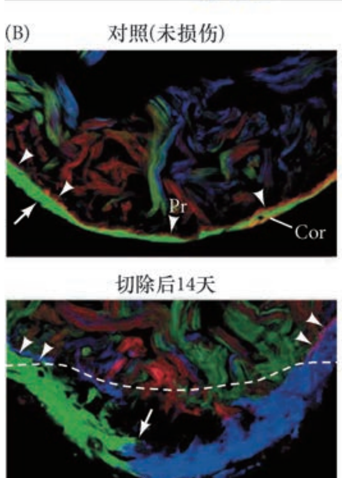
图 22.24　在鳍再生过程中检测 Wnt/β- 联蛋白信号的时空作用。(A) 使用 Tet/On 激活系统进行可诱导基因表达的实验设计。一种转基因斑马鱼具有一个组织特异性启动子（泛素或 *her4.3*），驱动四环素和蓝色荧光蛋白的表达。另一种转基因斑马鱼具有 *tet* 启动子的转基因，驱动 Axin1-YFP（黄色荧光蛋白）的表达；这个转基因的功能性转录仅与多西环素 (DOX) 组合时才能发生。这两种转基因鱼交配后产生双转基因个体（以点和条纹表示），能使 Axin1 的空间（组织特异性启动子）和时间（多西环素）表达受到控制。(B，C) Axin1 的错误表达干扰再生。左侧照片显示泛素 (B) 或 *her4.3* (C) 启动子驱动的 Axin1 异常表达图式（黄色）。右侧照片显示截断后 12 天的尾鳍，有多西环素或没有多西环素时 Axin1 的异常表达。(B) 当 Wnt/β- 联蛋白在整个鳍中被错误表达的 Axin1 抑制时（泛素启动子），尾鳍的再生速度降低。(C) 当 Axin1 仅在鳍的成骨细胞的祖细胞中错误表达时 (*her4.3* 启动子)，鳍条骨在再生过程中的骨化出现严重缺陷（红色染色，括号）。AmCyan：亮蓝色荧光蛋白（A 图参考 Wehner et al. 2014；B 图和 C 图来自 Wehner et al. 2014）。

马鱼的心脏在整个生命中都保留了再生能力，部分原因是组成心脏主要组织的心肌细胞（肌肉细胞）具有持续的有丝分裂能力（Poss et al. 2002）。很明显，已有的心肌细胞对成体心脏的再生有主要作用。的确，使用斑马荧光彩虹法转基因系统（见第 2 章）在心脏特异性启动子的控制下追踪细胞谱系，证明了已经分化的心肌细胞能产生一些克隆的再生细胞（图 22.25；Gupta and Poss 2012）。

很多实验室的工作表明，成体斑马鱼的心脏再生主要来源于已有心肌细胞的去分化（新建再生），通过局部增殖和迁移在伤口部位建立芽基，最终芽基细胞进行再分化以修复心脏（Curado and Stainier 2006；Lepilina et al. 2006；Kikuchi et al. 2010；Zhang et al. 2013）。此外，有研究显示，远离急性损伤位置的健康心室组织也能通过加速增殖（增生）而应答损伤，这是一种再生的补偿性机制（图 22.26；Poss et al. 2002；Sallin et al. 2015）。补偿性再生通常伴随肥大性生长（即细胞体积的增加），但这尚未在斑马鱼心脏再生中予以证明。

发育中的斑马鱼心脏在再生过程中似乎也能够进行变形再生或转分化。使用斑马鱼幼体的研究人员通过引起心室心肌细胞的凋亡而使幼体心室组织严重损伤（Zhang et al. 2013）。他们使用心室肌球蛋白重链启动子在心室心肌细胞中靶向表达硝基还原酶，并通过添加与硝基还原酶发生反应的细胞毒性前药来诱导细





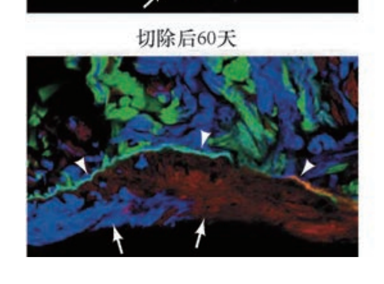


图 22.25 已有的心肌细胞参与斑马鱼心室的再生。(A) 用双转基因斑马鱼仅在心肌细胞中产生多色克隆性标记，而心脏肌球蛋白轻链 -2 启动子被用于控制 Cre 重组酶的表达。回想一下，CreER 中的“ER”表示雌激素应答性调控，这使研究人员能在任何时间利用他莫昔芬药物诱导重组。这个图是在受精后 4 天进行重组，然后发育到第 6 周的心室。可见不同颜色的斑块，说明心脏仅来自几十个心肌祖细胞。(B) 这些先前存在的克隆性标记的心肌细胞参与形成大部分的再生心室组织。箭头和箭分别表示原发层（Pr）和皮质层（Cor）（来自 Gupta and Poss 2012）。

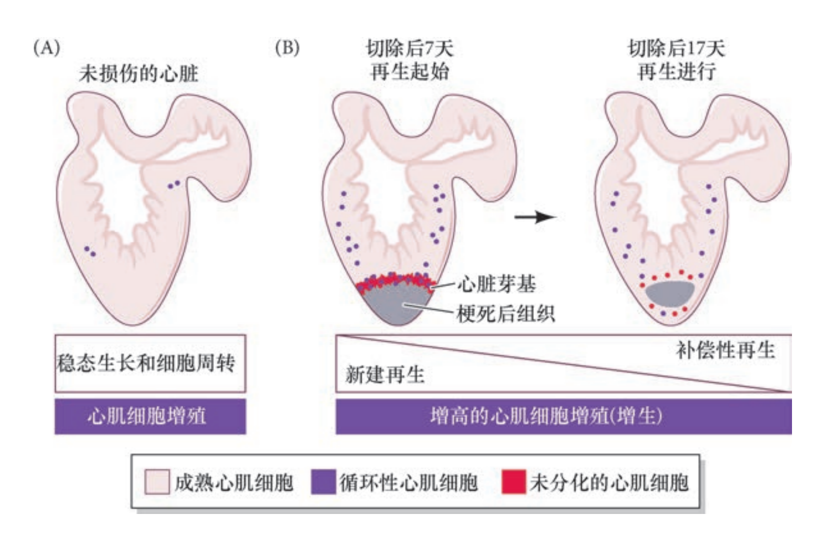


图 22.26 成体斑马鱼心脏再生过程中的新建再生和补偿作用。(A) 心脏正常稳态时的生长和增殖水平。(B) 心室损伤 7 天和 17 天后的再生应答。再生中的心脏首先在伤口表面形成一个局部芽基，它受新建过程的刺激，在这个过程中心肌细胞去分化、增殖和再分化成为新的心室心肌细胞。通过升高增殖水平的补偿性再生在整个心室组织启动，甚至是在没有受到任何损伤的区域（参考 Sallin et al. 2015）。

胞死亡。这个过程严重损伤幼体鱼心脏的心室组织。接下来发生的事情非常引人注目。邻近位置已分化的心房心肌细胞做出损伤应答，迁移到受损的心室组织，并上调心室特异基因的表达，如心室肌球蛋白重链（图 22.27A）。几个月后，这些迁移的心房心肌细胞的命运图谱显示它们保留在心室壁，参与形成再生完全和具有功能的心室及心脏（图 22.27B）。Zhang 及其同事进一步证明 Notch-Delta 信号在心房的心肌中高度上调，并且对心房介导的心室损伤修复是必需的（图 22.27C）。如果在心室组织切除过程中使用 γ- 分泌酶抑制剂（3，5- 二氟苯乙酰基）对 Notch 信号进行药物性抑制，这样就会严重影响心脏的再生（图 22.27D；Zhang et al. 2013）。这些结果表明，至少在幼体发育过程中，心肌细胞能够进行转分化以支持心脏的再生。因此，斑马鱼心脏的细胞似乎采用多种机制来促使其再生：芽基形成的新建再生、补偿性增殖、Notch 信号介导的转分化。

> **观察发育 22.1**　来自 Neil Chi 博士实验室的视频记录了斑马鱼心脏再生的迷人工作。

22.6　哺乳动物的再生

虽然哺乳动物不具有与本章所描述的其他生物相同水平的再生能力，但它们能再生某些结构。哺乳动物很少遵循“从头开始”的原则，而更倾向于“如果你不能重造它，就把它变得更大”。

手指和心脏并非完全不同　像啮齿类和人类这样的哺乳动物，如果生物体足够年幼，它们被证明能够再生指（趾）的顶端。首先，祖细胞组成的再生芽基在指（趾）的顶端形成（Fernando et al. 2011）。像蝾螈肢再生那样，没有发生重新特化（Lehoczky et al. 2011；Rinkevich et al. 2011）。相反，新的表皮来自外胚层的局限性祖细胞，新的骨骼来自成骨细胞的祖细胞。这种与蝾螈肢再生的相似之处为我们利用蝾螈再生的知识来增强人类的再生能力提供了希望。

有趣的是，小鼠的心脏组织也能再生，但仅限于出生一周内的新生小鼠。此后就失去了再生能力，这可能是因为心肌细胞退出了细胞周期（Porrello et al. 2011）。有研究证明，成体哺乳动物（与成体斑马鱼一样）的心肌细胞能应答

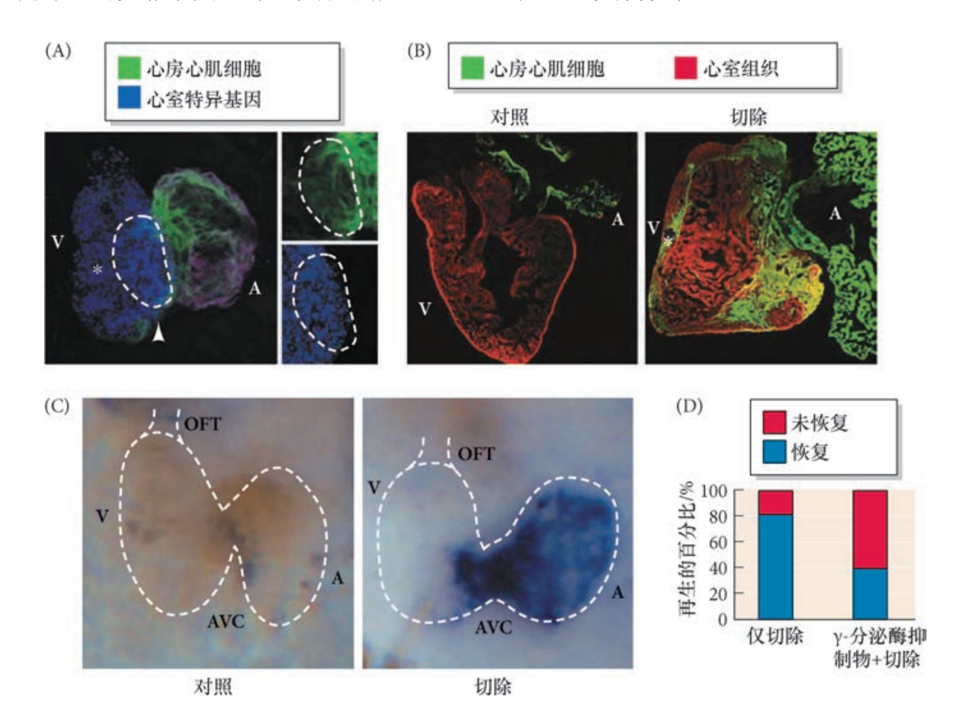


图 22.27　斑马鱼幼体心脏再生过程中心房心肌细胞转分化成心室心肌细胞。(A) 诱导心室心肌细胞凋亡后，分化的心房心肌细胞（绿色）的命运图谱显示它们从心房迁移到损伤的心室组织。在这个迁移过程的过渡点，心房细胞开始表达心室标志物，说明它们发生了转分化（见观察发育 22.1）。(B) 切除心室组织 12 个月后，迁入的心房心肌细胞（绿色）完全分化成心室组织（红色），并参与形成一个功能性成体心脏。(C) Notch-Delta 信号对心房心肌细胞参与再生是必需的。在切除心室细胞 24 h 后（右图），*deltaD* 和其他相关基因（蓝色染色）在心房心肌细胞高度上调，特别是那些向心室组织迁移的细胞。(D) 在切除心室组织过程中用 γ- 分泌酶抑制物 (DAPT) 对 Notch 信号进行药物性抑制严重影响心脏的再生。A：心房；V：心室；AVC：房室管；OFT：流出道（来自 Zhang et al. 2013）。

心力衰竭，重新进入细胞周期，因此参与损伤的修复（Senyo et al. 2013）。

哺乳动物肝的补偿性再生 根据希腊神话，普罗米修斯为人类带来了火种，因此受到了宙斯的惩罚。他被铁链缚在一块石头上，每天都有一只鹰将他的一部分肝撕下来吃掉。他的肝在晚上就会再生，持续为鹰提供食物，这也是对普罗米修斯的永恒惩罚。现今，肝再生的标准检测方法是肝的部分切除术，将一部分肝叶去除（当然是在麻醉之后，不像普罗米修斯那么可怜），而使其他肝叶保持完整。虽然被切除的肝叶不能生长出来，但剩余的肝叶能增大以补偿丢失的组织（Higgins and Anderson 1931）。再生的肝体积与切除的肝体积等同。这种**补偿性再生**（**compensatory regeneration**），即分化的细胞通过分裂以恢复受损器官的结构和功能，已经在上述斑马鱼的心脏和哺乳动物的肝中得到证明。

人的肝通过已有组织的增殖而再生。令人惊讶的是，再生过程中的肝细胞在重新进入细胞周期时并不完全去分化。再生时也不形成再生芽基。相反，哺乳动物的肝再生似乎有另外两种方式。第一种是正常和成熟的成体肝细胞。这些成熟细胞在正常情况下并不分裂，但在肝损伤时它们被指令重新进入细胞周期和进行增殖，直到完全补偿缺失的部分。第二种方式（将在下面讨论）是肝祖细胞群体，它们在正常情况下处于休眠状态，但在损伤严重和衰老、酗酒或疾病等原因使成体肝细胞不能完全再生时被激活。

在肝的正常再生中，五种类型的肝细胞，包括肝细胞、导管细胞、储脂细胞、内皮细胞和 Kupffer 巨噬细胞，都开始分裂以增加自身的数量。每种类型都保留其细胞特征，而且即便是肝在再生自身时，也保持合成肝特异酶的能力，这些酶对葡萄糖调节、毒素降解、胆汁合成、白蛋白生成，以及其他肝功能都是必需的（Michalopoulos and DeFrances 1997）。

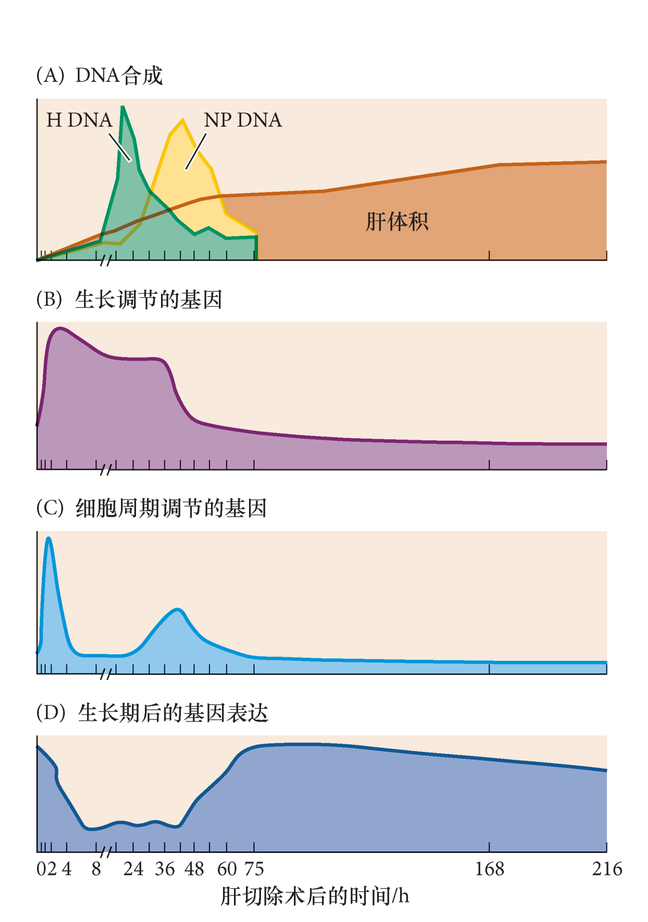


图 22.28 哺乳动物在部分肝切除术后基因表达的变化与肝体积增大的相关性。(A) DNA 合成的初始峰可见于肝细胞（H，绿色），随后见于非实质细胞（NP，黄色）。这种 DNA 合成的激增与生长调节（B）和细胞周期调节（C）的基因表达上调相一致，这两种上调在肝体积（A 图的棕色阴影）达到正常大小后便逐渐降低。(D) 总体基因表达在生长期之后仍维持高水平，反映了再生肝组织的功能性（参考 Taub 2004）。

可能有多个冗余的信号途径参与启动肝细胞的增殖和再生（图 22.28；Riehle et al. 2011）。全基因表达谱分析显示，这些途径的最终结果是下调（但不是完全阻断）那些参与肝细胞分化功能的基因，同时激活那些使细胞进行有丝分裂的基因（White et al. 2005）。肝的移除或损伤可以通过血流被感知：一些肝特异因子丢失，而另外一些因子（如胆汁酸和肠脂多糖）升高。这些脂多糖激活非肝细胞分泌一些促使剩余的肝细胞重新进入细胞周期的旁分泌因子。Kupffer 细胞分泌白细胞介素 -6 和肿瘤坏死因子 -α（它通常参与激活成体免疫系统）；卫星细胞分泌旁分泌因子**肝细胞生长因子**（**hepatocyte growth factor，HGF**）或称为**分散因子**（**scatter factor**），以及转化生长因子 -β。肝的特殊血管也分泌肝细胞生长因子以及 Wnt2（Ding et al. 2010）。

然而，仍然相互连接成上皮的肝细胞不能对肝细胞生长因子产生应答。在部分肝切除术 1 h 内，肝细胞激活肝细胞生长因子的受体 cMet，阻断 cMet（通过 RNA 干扰或敲除）后肝将完全不能再生（Borowiak et al. 2004；Huh et al. 2004；Paranjpe et al. 2007）。来自肝切除术的创伤可能激活一些金属蛋白酶，降解细胞外基质，使肝细胞分离和增殖。这些酶也可能将肝细胞生长因子切割成活化状态（Mars et al. 1995）。内

皮细胞、Kupffer 细胞和卫星细胞产生的一些因子通过阻止细胞凋亡、激活细胞周期蛋白（细胞周期蛋白 D 和细胞周期蛋白 E）、抑制细胞周期蛋白抑制物（如 p27），共同促进肝细胞分裂（见 Taub 2004）。

达到恰当的体积时，肝就会停止生长，这种调节机制尚不清楚。但其中一个线索来自一些联体实验，也就是通过手术将两只大鼠的循环系统连接在一起。在其中一只联体的大鼠中进行部分肝切除术能引起另一只大鼠的肝变大（Moolten and Bucher 1967）。因此，这说明血液中的某种或某些因子似乎建立肝的大小。Huang 及其同事（2006）提出，这些因子是肝分泌的胆汁酸，能正调节肝细胞生长。部分肝切除术刺激胆汁酸进入血液。这些胆汁酸被肝细胞接收并激活促进细胞分裂的胆汁酸受体（Fxr）转录因子。缺失功能性胆汁酸受体蛋白的小鼠肝不能再生它们的肝。因此，胆汁酸（含量相对较低的肝分泌产物）似乎调节肝的大小，使其保持一个特定体积的细胞。但是，这些因子相互作用的分子机制，以及肝在最初被指令开始再生和达到适当体积后停止再生的分子机制仍有待进一步研究。

因为人的肝具有再生能力，所以来自活体供体的兼容性肝可被用来替代患者的病变肝（通常是遗传上的近亲，供体的肝能够恢复）。与小鼠的肝相比，人的肝再生较慢，但功能却迅速恢复（Pascher et al. 2002；Olthoff 2003）。此外，哺乳动物的肝具有“第二线”再生能力。如果肝细胞在一定时间内不能充分再生肝，那么**肝卵圆细胞**（**oval cell**）就会分裂形成新的肝细胞。肝卵圆细胞是一组能够产生肝细胞和胆管细胞的祖细胞。它们可能被作为储备，只有在肝细胞试图使肝恢复正常之后才被使用（Fausto and Campbell 2005；Knight et al. 2005）。

下一步的研究

是什么使水螅、涡虫、蝾螈和鱼类比哺乳动物具有更强的再生能力？研究再生的下一步可能是利用这些独特的能力诱导哺乳动物组织的再生。在这一章，我们重点关注了一些利用全转录组手段来鉴定再生所需基因的研究。这些方法正在揭示一些重要的参与者。显然，再生经常是胚胎发育的局部重新部署。为什么这种向发育状态的恢复对哺乳动物更具有挑战性？在这些模式生物中继续鉴别使再生成为可能的原因将有助于我们更好地理解什么是可能的事情，以及再生的进化优势和劣势。



开篇图的思考

看完本章后，你应该能够确定这个图是一个异位或额外的蝾螈肢。这个图来自 Gardiner 的实验室，研究人员进行了本章所描述的同类实验，将神经转向前部表皮的伤口区域，并将后部表皮移植到同一区域。“精神御体”？尽管这种再生显然不是来自脑的一个意向，但它的确“鼓起了勇气”。更具体地说，它需要再生中的神经及其附属的施万细胞，而施万细胞表达启动再生所需的蝾螈前部生长因子。即使没有神经，这个生长因子也能促进新建再生。虽然目前还不清楚这个因子或其他相似因子是否能在哺乳动物中刺激肢的再生，但对于这些潜在的促再生因子的了解也确实使我们倍感兴奋（照片来自 C. McCusker 和 D. M. Gardiner 2011）。



22 要点总结

再生

1. 有四种主要类型的再生。干细胞介导的再生（如涡虫再生）通常是通过产生新的细胞来代替死亡的细胞。在新建再生（如再生中的蝾螈肢和鱼鳍），一些组织在一个再生芽基中形成、分裂并重新分化成新的结构。在变形再生（水螅再生的特征），已有的组织在只有极少或没有生长的情况下重新图式化。在补偿性再生（如哺乳动物的肝），细胞在保留其分化状态下进行分裂。
2. 水螅似乎具有一个头部激活梯度、一个头部抑制梯度、一个足部激活梯度和一个足部抑制梯度。出芽发生在这些梯度最小的位置。
3. 水螅的垂唇区似乎是分泌旁分泌因子（Wnt3）的组织者区域，通过新建再生机制改变周围组织的命运。
4. 在涡虫扁形动物中，再生通过形成一个由多潜能克隆性未分化细胞产生的再生芽基而进行。Wnt 信号梯度似乎以头部表达的 Wnt 抑制物 Notum 所调节的图式指令这些细胞沿前 - 后轴分化。
5. 在两栖类的再生肢芽基中，细胞没有变成局限多能性。相反，细胞保留它们的特化，骨骼来自于已有的软骨，神经元来自已有的神经元，肌细胞也同样来已有肌细胞或肌干细胞。
6. 顶端表皮帽和肢神经轴突周围的神经胶质提供促有丝分裂原，例如，蝾螈前部梯度蛋白，即使没有神经，它们也能诱导肢的再生。蝾螈肢的再生似乎与发育中的肢使用相同的图式形成体系。
7. 斑马鱼以多种方式进行再生。斑马鱼鳍的远端再生主要是通过已有细胞类型的去分化，然后是一个芽基样外向生长的活跃增殖。斑马鱼心脏组织也首先通过新建再生，然后是增殖的补偿性再生期。
8. 哺乳动物的肝中没有再生芽基的形成，肝再生的体积与失去的体积相同。每种细胞似乎产生自身的细胞类型。当这些组织不能再生缺失的部分时，局限性多能祖细胞的储备群体便开始分裂。

拓展阅读

Bode, H. R. 2012. The head organizer in *Hydra*. *Int. J. Dev. Biol.* 56: 473–478.

Gee, L., J. Hartig, L. Law, J. Wittlie, K. Khalturin, T. C. Bosch and H. R. Bode. 2010. β-Catenin plays a central role in setting up the head organizer in hydra. *Dev. Biol.* 340: 116–124.

Gupta, V. and K. D. Poss. 2012. Clonally dominant cardiomyocytes direct heart morphogenesis. *Nature* 484: 479–84.

Hill, E. M. and C. P. Petersen. 2015. Wnt/Notum spatial feedback inhibition controls neoblast differentiation to regulate reversible growth of the planarian brain. *Development* 142: 4217–4229.

Kragl, M., D. Knapp, E. Nacu, S. Khattak, M. Maden, H. H. Epperlein and E. M. Tanaka. 2009. Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. *Nature* 460: 60–65.

Kumar, A., J. W. Godwin, P. B. Gates, A. A. Garza-Garcia and J. P. Brockes. 2007. Molecular basis for the nerve dependence of limb regeneration in an adult vertebrate. *Science* 318: 772–777.

Kumar, A., J. P. Delgado, P. B. Gates, G. Neville, A. Forge and J. P. Brockes. 2011. The aneurogenic limb identifies developmental cell interactions underlying vertebrate limb regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 13588–13593.

Li, Q., H. Yang and T. P. Zhong. 2015. Regeneration across metazoan phylogeny: Lessons from model organisms. *J. Genet. Genomics* 42: 57–70.

Liu, S. Y. and 9 others. 2013. Reactivating head regrowth in a regeneration-deficient planarian species. *Nature* 500: 81–84.

McCusker, C. D. and D. M. Gardiner. 2014. Understanding positional cues in salamander limb regeneration: Implications for optimizing cell-based regenerative therapies. *Dis. Model Mech.* 7: 593–599.

McCusker, C., J. Lehrberg and D. M. Gardiner. 2015. Position-specific induction of ectopic limbs in non-regenerating blastemas on axolotl forelimbs. *Regeneration* 1: 27–34.

Sikes, J. M. and P. A. Newmark. 2013. Restoration of anterior regeneration in a planarian with limited regenerative ability. *Nature* 500: 77–80.

Taub, R. 2004. Liver regeneration: From myth to mechanism. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 5: 836–847.

Umesono, Y. and 9 others. 2013. The molecular logic for planarian regeneration along the anterior-posterior axis. *Nature* 500: 73–76.

van Wolfswinkel, J. C., D. E. Wagner and P. W. Reddien. 2014. Single-cell analysis reveals functionally distinct classes within the planarian stem cell compartment. *Cell Stem Cell* 15: 326–339.

Wagner, D. E., I. E. Wang and P. W. Reddien. 2011. Clonogenic neoblasts are pluripotent adult stem cells that underlie planarian regeneration. *Science* 332: 811e816.

Wagner, D. E., J. J. Ho and P. W. Reddien. 2012. Genetic regulators of a pluripotent adult stem cell system in planarians identified by RNAi and clonal analysis. *Cell Stem Cell* 10: 299–311.

Wehner, D. and 11 others. 2014. Wnt/β-catenin signaling defines organizing centers that orchestrate growth and differentiation of the regenerating zebrafish caudal fin. *Cell. Rep.* 6: 467–481.

Wurtzel, O., L. E. Cote, A. Poirier, R. Satija, A. Regev and P. W. Reddien. 2015. A generic and cell-type-specific wound response precedes regeneration in planarians. *Dev. Cell* 35: 632–645.

Zhang, R. and 11 others. 2013. In vivo cardiac reprogramming contributes to zebrafish heart regeneration. *Nature* 498: 497–501.

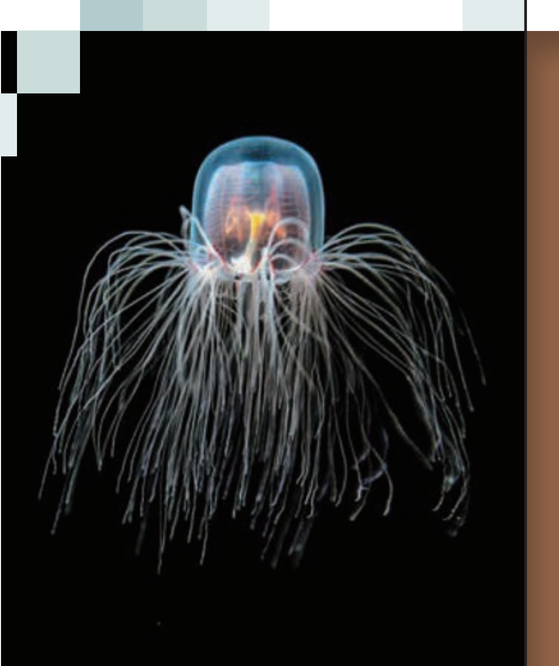
浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 23 章

老龄化和老年化

这个水母怎样避免死亡而变得永生？



熵会不断增加。一个多细胞生物体只有在退化多于合成及衰老发生之前才能发育和保持其特征。**老龄化**（**aging**）可以被定义为生存和生育率所需的一些生理功能随时间的退化。与癌症和心脏病等老龄化疾病不同，老龄化的特征影响一个物种的所有个体。老龄化过程主要有两个方面：第一个方面仅是一个生物的生存时间；第二个方面涉及代表老年特征的生理性退化，或**老年化**（**senescence**）。这些问题通常被视为相互关联。老龄化（或老年化）都受遗传和环境因素的影响，目前还没有一个统一的老龄化理论将它们联系在一起。正如一个新近的综述（Underwood 2015）指出的那样，“在寻找生物钟的竞赛中，有很多竞争者”。

23.1 基因和老龄化

根据 Steve Jobs（2005）的结论，“死亡很可能是生命中唯一最好

要点

现在尚没有一个假说可以解释老龄化和老年化。编码 DNA 修复酶和调节代谢速度的因子的基因发生突变可能对老龄化至关重要，胰岛素信号级联（参与代谢和饮食的相互作用）调节生育率和老龄化。另外，随着年龄的增长，DNA 和染色质的随机表观遗传变化能使基因失活。新的研究表明，干细胞及其微环境对于正常的生物体功能至关重要，随着突变和表观遗传变化的积累，这些干细胞可能会死亡或失去功能。随着细胞变得老年化，它们被认为能分泌一些模拟炎症反应和抑制器官功能的旁分泌因子。

的发明”。但是很显然，死亡在不同生物体中的发生也不相同，而且这些差异受遗传决定。小鼠能活 3 年；人能活几十年。**最高寿命**（**maximum lifespan**）是一个特定物种的一个个体已知存活的最长年限，并且是该物种的特征（Coles 2004）。截至 2013 年，已知的人类最高寿命是 122.5 岁。一些陆龟和湖鳟的寿命尚未确定，但估计能超过 150 年。家养狗的最高寿命是 20 年左右，实验鼠的最高寿命是 4.5 年；大多数的野外小鼠甚至都不能活到庆祝它们的第一个生日。如果一只果蝇能存活到羽化（在野外，90% 以上都在幼体时死亡），它的最高寿命是 3 个月。

遗传因素对确定物种间和物种内的寿命有一定的作用（Wilson et al. 2007）。大多数人预期不能活到 122 年。**生命期望**（**life expectancy**），即一个特定物种的一个特定个体预期能够生存的平均时间，这不是物种的特征，而是种群的特征。它有时被定义为种群的一半个体仍然存活的年龄。在 18 世纪 80 年代出生于英国的一个婴儿预期能活到 35 岁；在同一时间的马萨诸塞州，生命期望是 28 岁。这些年龄代表了有史以来大多数人类种族中人类生命期望的正常范围（Arking 1998）。即使今天，在一些国家（安哥拉、乍得、莱索托及其他国家），生命期望也只有 45 岁左右。目前在美国，男性的生命期望约为 76 岁，女性的生命期望约为 81 岁[1]。

鉴于在大多数时间和地方，人的寿命一般不超过 40 岁，我们对人类老龄化的认识还相对较新。在 1900 年，有 50% 的美国人在 60 岁以前死亡；一个 70 岁的人在 1900 年是极其少见的，但在今天却很平常。在 1900 年，很少有人“奢侈”地死于心脏病发作或癌症，因为这些情况最可能影响到 50 岁以上的人。相反，很多人都是死于微生物和病毒感染（目前世界上很多地区仍有人死于这样的感染）。直到最近，相对较少的一些人才表现出常规的人类老年化表型：白发、下垂和皱纹的皮肤、关节炎、骨质疏松症（骨钙丢失）、肌纤维和肌力缺失、记忆力丧失、视力退化和性反应迟缓。正如忧郁的雅克在莎士比亚的《皆大欢喜》中所说的那样，那些一直活到老年化的人们离开这个世界时“缺牙、缺眼、缺味、缺所有的东西”。

特定物种的寿命似乎受一些基因决定，这些基因影响早期生长和繁殖所用的能量（导致体细胞损伤）与分配给维持和修复的能量之间的权衡。换句话说，老龄化是自然选择的结果，它更偏向于早期生存和生殖，而不是充满活力的生殖后生活。分子证据显示，长寿的一些遗传成分在物种之间都是保守的，蝇、蠕虫、哺乳动物、甚至是酵母似乎都使用同一组基因来促进生存和长寿（见 Vijg and Campisi 2008；Kenyon 2010）。目前已经明确有四组基因在老龄化及其预防中发挥作用，每一组似乎在动物门之间甚至是动物界之间都是保守的。这些基因编码：① DNA 修复酶；②胰岛素信号途径的蛋白质；③ mTORC1 信号途径的蛋白质（调节翻译的级联反应）；④染色质重塑酶。

23.1.1 DNA 修复酶

DNA 修复酶对阻止老年化似乎非常关键（Gorbunova et al. 2007）。细胞中具有高效 DNA 修复酶的物种的个体存活时间更长（**图 23.1**；Hart and Setlow 1974）。人和小鼠的过早老龄化综合征，称为**早老症**（**progeria**），似乎是由于基因突变阻止了 DNA 修复酶的功能而引起的（**图 23.1B**；Sun et al. 1998；Shen and Loeb 2001；de Boer et al. 2002）。

老龄化的“磨损”理论是为解释人类老年化表型而提出的早期假说（Weismann 1891；Medawar 1952）。随着年龄的增长，身体及其基因组的一些小创伤逐渐增加。在分子水平上，点突变的数量随着年龄的增长而增加，并且我们的基因所编码的一些酶的活性也逐渐降低（Singh et al. 2001；Bailey et al. 2004；Rossi et al. 2007）。而且，如果突变发生在编码参与转录或翻译的蛋白质的基因，细胞就可能会产生更多的错误蛋白（Orgel 1963；Murray and Holliday 1981；Kamileri et al. 2012）。

---

[1] 美国在 1935 年通过社会保障制度时普通劳动公民一般在 65 岁前死亡。因此，他（这通常是一个男人）预期并不能收回多少他所交付的保险金。类似地，“直到死亡把我们分开”的婚姻也很容易实现，因为死亡就发生在生命的第三或第四个十年。在有抗生素之前，与分娩相关的感染所造成的年轻妇女死亡率在整个世界都很高。

活性氧化类　突变的两个主要来源是辐射和**活性氧化类**（**reactive oxygen species，ROS**）。正常代谢产生的活性氧化类能氧化和损伤细胞膜、蛋白质和核酸。我们的线粒体所摄入的氧原子中有 2%～3% 没有充分还原，形成了活性氧化类：超氧离子、羟基（“游离”）自由基和过氧化氢。活性氧化类分子对老龄化过程有关键作用的证据包括高表达清除活性氧化类的一些酶（过氧化氢酶和超氧化物歧化酶）的果蝇和线虫比对照动物存活更长的时间（Orr and Sohal 1994；Parkes et al. 1998；Sun and Tower 1999；Feng et al. 2001）。然而，这些关联在其他一些研究中还没有得到证实，所以，清除游离氧自由基的遗传能力可能对长寿并不是必要的（Pérez et al. 2009；van Raamsdonk and Hekimi 2012）。

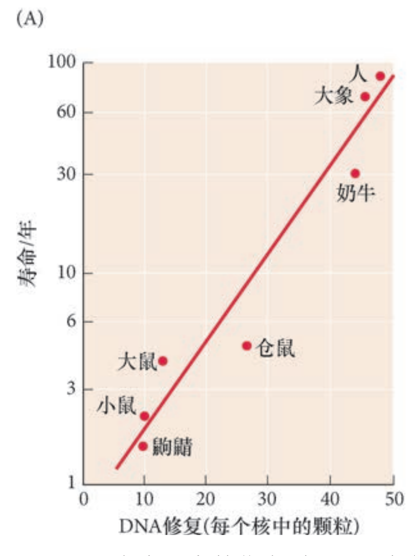




图 23.1　寿命和老龄化表型。（A）在各种哺乳动物，寿命与成纤维细胞修复 DNA 的能力之间的关联。修复能力表现在放射自显影中每个细胞核显示的放射性胸苷的颗粒数量。其中的 *y* 轴（寿命）是对数。（B）Hutchinson-Gilford 早老症。虽然他们还没有 8 岁，但这些孩子的表型与一个老年人相似。脱发、脂肪分布和皮肤透明是老年人中正常老龄化图式的特征。这种突变产生一个异常的核膜蛋白，似乎能阻止 DNA 的修复（Coppedè and Migliore 2010）（A 图参考 Hart and Setlow 1974；B 图为 Associated Press 版权所有）。

端粒酶和 p53　转录因子 **p53** 是最重要的细胞分裂调节物之一。这个因子可以终止细胞周期，在快速分裂的细胞中引起细胞老龄化、指令基因启动细胞凋亡并激活 DNA 修复酶。在多数细胞中，p53 结合一个维持 p53 失活的阻遏物蛋白。然而，紫外线辐射、氧化应激和一些引起 DNA 损伤的其他因素能使 p53 与其阻遏物分离，使其发挥功能。通过 p53 诱导的细胞凋亡或细胞老年化可能是有益的（如果破坏癌细胞），或是有害的（如果破坏神经元或干细胞）。

激活 p53（及相关蛋白，如 p63）的主要途径之一是损伤**端粒**（**telomere**），这是一些位于染色体末端的保护性核蛋白帽（类似于鞋带末端上防止鞋带解绕的小管）。当 p53 被受损的端粒激活时，DNA 的复制停止，如果修复不能发挥功能，这将会启动细胞凋亡。如果这个细胞是一个干细胞或其他快速复制的细胞，这将会减少细胞数量，并且干细胞的缺乏将会导致“老龄”的表型。目前已经在一些退行性疾病如小鼠肌营养不良中观察到缩短的端粒和干细胞消耗之间的关系（Sacco et al. 2010）。

在人类，端粒的长度与长寿呈正相关（Atzmon et al. 2010），并且在小鼠和人的干细胞中它似乎随着年龄的增长而缩短（Zhang and Ju 2010）。维持端粒完整性的酶复合物是**端粒酶**（**telomerase**），这是一个抗老年化的复合体。具有端粒酶缺陷的小鼠和人会早老（Mitchell et al. 1999）。高表达端粒酶或使它在老年化细胞中重新激活能延长小鼠的寿命，而不增加癌症风险（Tomás-Loba et al. 2008；Jaskelioff et al. 2011；Bernardes de Jesus et al. 2012）。然而，除了罕见的遗传性端粒综合征以外，端粒的长度仅能给出年龄的一个统计性概率，而不能预测一个个体的寿命（Blackburn et al. 2015）。

23.1.2　老龄化和胰岛素信号级联

对于老龄化具有遗传“程序”这个观点的质疑是进化怎样对这些程序进行选择。一旦一个生物体过

了生殖年龄，并将它的后代抚养到性成熟，它就变成“生命树上的一个累赘物”(Rostand 1962)；对于仅在生物体完成生殖后才对其产生影响的一些性状，自然选择可能不会对它们起作用。但是，关于“进化如何选择退化的方式和时间？”，这可能是一个错误的问题。进化很可能无法选择这样的性状。正确的问题可能是，“进化如何选择推迟生殖或性成熟的表型”？在生殖和维持之间通常有一个权衡，而且在很多物种中生殖和老年化密切关联。

最近对小鼠、秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)和果蝇(*Drosophila*)的研究表明，有一个调节老龄化的保守性遗传途径，并且它可被选择。这个途径涉及胰岛素和胰岛素样生长因子的应答。在秀丽隐杆线虫，一个幼体经历四个幼体时期，然后变为成体。如果线虫过度拥挤或没有充足的食物，幼体便会进入代谢休眠的**持久幼体**(**dauer larva**)时期，这是一个不进食的**滞育**(**diapause**)状态，发育和老龄化被暂停。线虫在持久幼体时期能维持长达 6 个月的时间(而不是变成只能活几周的成体)。在这种状态下，线虫对交联蛋白和破坏 DNA 的氧自由基具有更高的抗性。调节持久幼体形成和长寿的途径已经被鉴别出来(Kimura et al. 1997；Guarente and Kenyon 2000；Gerisch et al. 2001；Pierce et al. 2001)，这就是**胰岛素信号途径**(**insulin signaling pathway**)。

在秀丽隐杆线虫，有利的环境能发出激活胰岛素受体同源物 DAF-2 的信号，这个受体刺激成体的起始(图 23.2A)。恶劣的环境不能激活 DAF-2 受体，这样就形成了持久幼体。尽管胰岛素信号途径中一些严重的功能缺失等位基因能使持久幼体在任何环境中形成，但这个途径的一些弱突变却能使动物进入成体，并使它们的寿命比野生型动物长 4 倍。

胰岛素信号途径的下调还具有其他几个功能。首先，它似乎会影响代谢，降低线粒体的电子传递。其次，当 DAF-2 受体没有活性时，细胞能更多地产生一些阻止氧化损伤的酶及 DNA 修复酶(Honda and Honda 1999；Tran et al. 2002)。第三，胰岛素信号的缺失会降低生育率(Gems et al. 1998)。Foxo/DAF-16 转录因子能升高 DNA 合成酶和抵抗活性氧化类的酶。这种叉头框转录因子受胰岛素受体信号的抑制。当这个信号不存在时，Foxo/DAF-16 因子便能发挥作用，以目前未知的方式延长寿命。Foxo/DAF-16 有可能激活一些基因的表达，这些基因产生细胞内的抗应激蛋白，以及帮助延长附近细胞寿命的脂质信号(Zhang et al. 2013)。Foxo 转录因子在整个动物界中都与长寿有关。的确，最近证明它是潜在的永生水螅中干细胞更新的主要驱动成分之一(Boehm et al. 2012)。

这个体系也可能在哺乳动物中起作用，但哺乳动物的胰岛素和胰岛素样生长因子途径与胚胎发育及成体代谢密切相关，以至于一些突变体经常有众多和严重的后果(如糖尿病或多纳体综合征)。然而，有证据表明胰岛素信号途径的确影响哺乳动物的寿命(图 23.2B)。具有低水平胰岛素样生长因子 -1 的狗品种比具有较高水平的品种存活的时间更长。携带胰岛素信号途径功能缺失突变的小鼠比野生型同窝小鼠的寿命更长(见 Partridge and

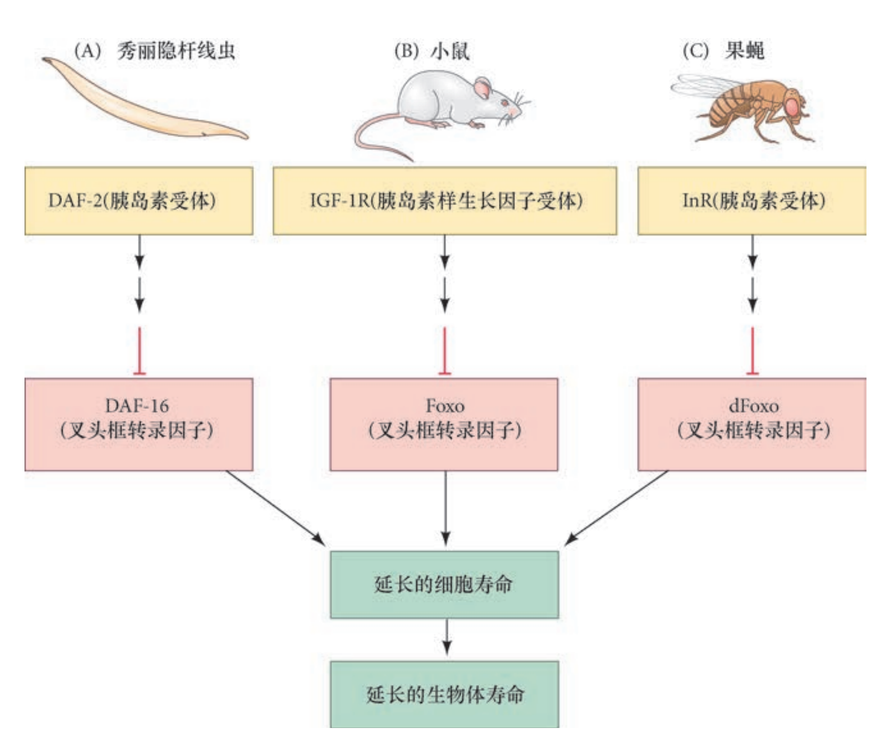


图 23.2 调节长寿的可能途径。在每种情况下，胰岛素信号途径抑制 Foxo 转录因子蛋白的合成，否则它将增高细胞寿命。

Gems 2002；Blüher et al. 2003；Kurosu et al. 2005）。Holzenberger 及其同事（2003）发现，胰岛素样生长因子 -1 受体的杂合突变体小鼠不仅比野生型同窝小鼠的寿命长约 30%，而且对氧化应激的抗性也更强。另外，缺失一个拷贝的胰岛素样生长因子 -1 受体基因的小鼠比野生型小鼠的寿命长约 25%。

胰岛素信号途径似乎也调节果蝇的寿命（**图 23.2C**）。胰岛素受体的基因或胰岛素信号途径的一些基因发生弱的缺失功能突变时，突变体果蝇的寿命比野生型果蝇的寿命长约 85%（Clancy et al. 2001；Tatar et al. 2001）。这些长寿的突变体是不育的，它们的代谢很像滞育期的果蝇（Kenyon 2001）。果蝇的胰岛素受体被认为能调节一个叉头框转录因子（dFoxo），类似于秀丽隐杆线虫的 Foxo/DAF-16。当果蝇的 *dFoxo* 基因在脂肪体中被激活时，它能延长果蝇的寿命（Giannakou et al. 2004；Hwang-bo et al. 2004）。从进化的角度来看，胰岛素途径可能介导生殖和生存 / 维持之间的权衡。很多（尽管不是全部）长寿命的突变体具有低的生育率。因此，有趣的是，另一个长寿信号来自生殖腺。从秀丽隐杆线虫中去除生殖细胞时，线虫能活更长时间。生殖干细胞产生一种物质，阻断诱导长寿的类固醇激素的作用（Hsin and Kenyon 1999；Gerisch et al. 2001；Shen et al. 2012）。

热量限制是另一种下调胰岛素途径的方式（Kenyon 2001；Roth et al. 2002；Holzenberger et al. 2003）。热量限制可能降低胰岛素样生长因子 -1（胰岛素样生长因子 -1 受体的主要配体）和循环的胰岛素水平，虽然其他机制也正在探索之中（如 Selman et al. 2009）。对于灵长类动物（包括人类）的研究还没有确定低热量摄入能延长它们的寿命，尽管这似乎的确能够延缓年龄相关的心率变异性及运动协调的下降（见 Colman et al. 2009；Mattison et al. 2012；Stein et al. 2012）。

23.1.3　mTORC1 途径

胰岛素信号途径降低长寿的主要方式之一可能是激活 mTORC1，这是一个蛋白激酶复合物，能在应答养分和激素时促进 mRNA 翻译成蛋白质（Lamming et al. 2012；Johnson et al. 2013）。因此，胰岛素信号途径抑制 Foxo，同时激活 mTORC1。饮食限制能降低 mTORC1 的活性，mTORC1 水平降低的小鼠比对照小鼠具有更长的寿命，能更好地抵御年龄相关的认知功能障碍，并且具有更多的功能性干细胞（Chen et al. 2009；Harrison 2009；Halloran et al. 2012；Majumder et al. 2012；Yilmaz et al. 2012）。降低 mTORC1 也能增加**自噬**（**autophagy**）的数量，也就是对损伤的细胞器和老年化细胞的清除与替代。很多与年老相关的疾病似乎都是自噬和替代缺陷的结果（Baker et al. 2011）。通过降低 mTORC1 而完成这些功能的机制仍不清楚，这个途径也是一个活跃的研究领域。

23.1.4　染色质修饰

染色质修饰在老龄化中可能非常重要。有研究证明，编码组蛋白脱乙酰作用（染色质沉默）酶的基因 **sirtuin** 在整个真核生物界都能防止老龄化，包括酵母和哺乳动物（Howitz et al. 2003；Oberdoerffer et al. 2008）。Sirtuin 蛋白阻止基因在错误的时间和位置表达，它们也能帮助修复染色质断裂。在 DNA 双链断裂时（随着身体老龄化不可避免地发生），sirtuin 蛋白被调用修复这些断裂，而不能顾及它们的正常功能。因此，通常处在沉默状态的基因随着细胞的老龄化而变得活跃。

或者，在身体的其他部位，如脑，组蛋白脱乙酰化酶能产生老龄化表型。认知能力下降，特别是回忆以往经历的能力，是哺乳动物老龄化综合征的正常部分。长期记忆在脑海马和额叶中被染色质重塑所稳定，这是一个涉及 DNA 甲基化和组蛋白修饰的过程（Swank et al. 2001；Korzus 2004；Miller et al. 2008；Penner et al. 2011）。Peleg 及其同事（2010）证明，与长期记忆稳定相关的正常转录随着小鼠年龄的增长而被干扰，这种转录缺失与组蛋白 H4 第 12 位赖氨酸的乙酰化降低相关。的确，向海马中注入组蛋白脱乙酰化酶的抑制物能恢复这种储存记忆的能力（**图 23.3**）。

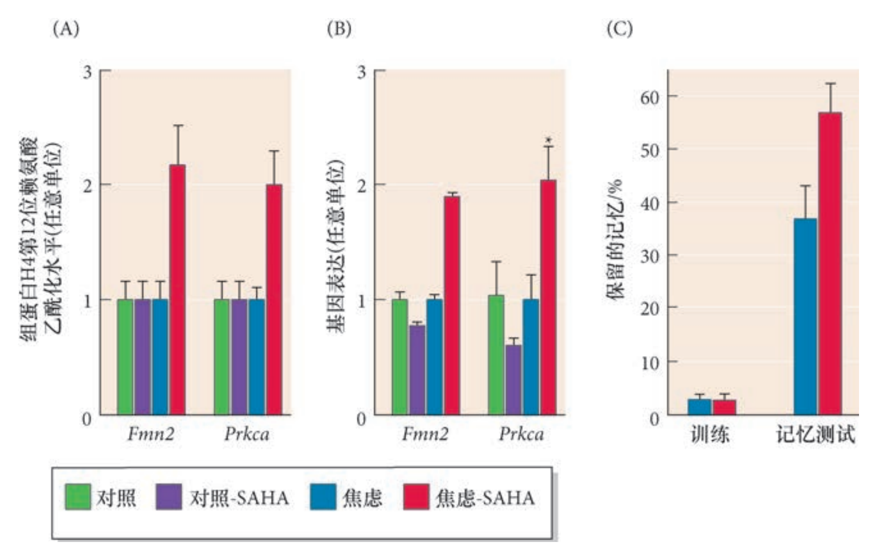


图 23.3 年龄相关的小鼠记忆衰退能被组蛋白脱乙酰酶抑制物所逆转。不使小鼠产生焦虑（对照）或使小鼠产生焦虑以形成新的记忆。(A) 通过染色质免疫沉淀实验在三个基因的编码区中鉴定第 12 位赖氨酸乙酰化的组蛋白 H4。被组蛋白脱乙酰化酶抑制物 (SAHA) 处理的焦虑小鼠中，组蛋白 H4 第 12 位赖氨酸呈现高水平的乙酰化。(B) 被组蛋白脱乙酰化酶抑制物处理的焦虑小鼠表达高水平的 *Fmn2* 和 *Prkca* 基因，这两个基因与记忆的形成相关。(C) 焦虑的小鼠被组蛋白脱乙酰酶抑制物处理后能更好地稳定这种焦虑的记忆（参考 Peleg et al. 2010）。

23.2 随机表观遗传漂移

随机表观遗传漂移在没有任何特定环境信息时能失活重要基因这个观点产生了一个全新的老龄化假说。相对于随机累积的突变（这可能是特定的诱变剂所引起的），我们更容易受到 DNA 甲基化酶和 DNA 脱甲基化酶产生的一些错误的偶然积累所影响。的确，与 DNA 聚合酶不同，我们的 DNA 甲基化酶很容易出错。在每一轮 DNA 复制时，DNA 甲基转移酶必须使恰当的胞嘧啶甲基化，而不使其他胞嘧啶甲基化，但它们并不是最严格保真的酶，会以 2% ～ 4% 的概率出现错误 (Ushijima et al. 2005)。在一定的遗传参数内（这些参数可能影响甲基化变化发生的速度，并且物种和个体之间可能有所不同），我们的细胞可能在我们的整个生命过程中积累基因表达的错误。

随机表观遗传漂移可能会对我们的生理功能产生重大的影响。例如，已知雌激素受体 -α 和雌激素受体 -β 基因启动子区域的甲基化随着年龄的增长呈线性增加（图 23.4；Issa et al. 1994），并且这种甲基化被认为能使这些基因在血管平滑肌细胞中失活。雌激素受体的降低将会阻止雌激素维持肌细胞的弹性，从而导致“动脉硬化”。雌激素受体基因甲基化的增高在堵塞血管的动脉粥样硬化斑块中更为显著（图 23.5）；这些斑块比周围组织表现出更高的雌激素受体基因甲基化 (Post et al. 1999；Kim et al. 2007)。因此，在这些细胞中，受甲基化影响的雌激素受体基因失活可能与年龄相关的血管系统退化有关。这种潜在的可逆性缺陷可能为干预心脏病提供新的治疗靶点。一些神经性疾病，包括双相型障碍、抑郁症和应激反应，也被证明与 DNA 甲基化和（或）组蛋白修饰有关 (Sweatt 2013)。最近对阿尔茨海默病（及其小鼠模型）的研究显示，表观遗传信号（染色质甲基化和乙酰化）在海马中呈现出突触可塑性功能的丧失和免疫功能的获得。这些变化充分表明免疫系统（和炎症）能使人易患阿尔茨海默痴呆 (Gjoneska et al. 2015)。

Horvath (2013) 对 50 多个不同年龄的健康个体进行了大规模基因组研究，扩展和完善了表观遗传的老龄化时钟。他分析了超过 350 个可能的 DNA 甲基化位点，显示这些位点的甲基化水平随着年龄的增长而逐渐升高。来自早期胚胎的细胞在这些位点上几乎没有任何甲基化，而来自百岁老人的细胞中这些位点被大量地甲基化。使用人的唾液中的细胞，Horvath 对 DNA 的甲基化分析能预测人的年龄，误差在 2 年之内（图 23.6）。而且，Hannum 及其同事 (2013) 的研究结果显示，乳腺、肾和肺组织的肿瘤比周围的非肿瘤组织具有更多的甲基化 DNA，使这些细胞看似比提供它们的患者“老”了大约 40%。这可能是因为参与染色质重塑过程

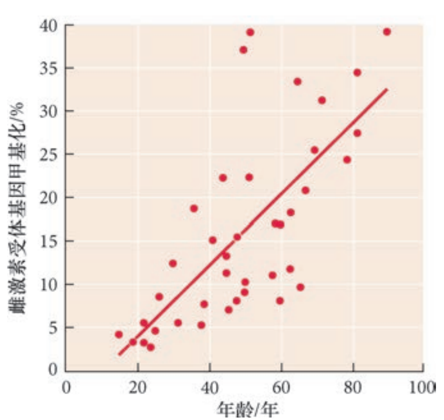


图 23.4 雌激素受体 -β 基因随着正常的生理性老龄化而发生甲基化（参考 Issa et al. 1994）。

的一个基因被甲基化。

因此，在这个老龄化的新假说中，随机表观遗传漂移似乎不受等位基因的类型或任何特定的环境因素所决定。随机表观遗传漂移可能是各种老龄化相关表型的原因，因为不同的基因被随机抑制或异位激活。DNA 甲基化过程中的错误随着年龄增长而积累，可能是我们的生理功能和解剖结构退化的原因。如果是这样，一些基因相对于其他基因可能是更重要的靶点。例如，上述的雌激素受体不仅在血管系统，也在骨骼和肌肉健康中都非常关键。目前还不清楚是什么机制设置了随机 DNA 甲基化的速度，但是这些机制对调节物种内和物种间的老龄化可能都至关重要。

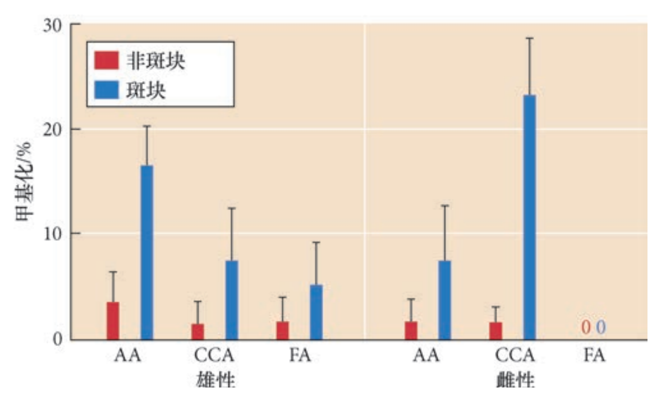
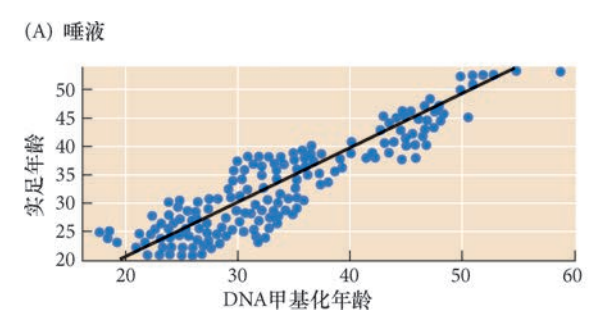


图 23.5　雌激素受体基因在升主动脉（AA）、颈总动脉（CCA）和股动脉（FA）的动脉粥样硬化斑块，以及邻近非斑块血管组织中的甲基化（参考 Kim et al. 2007）。



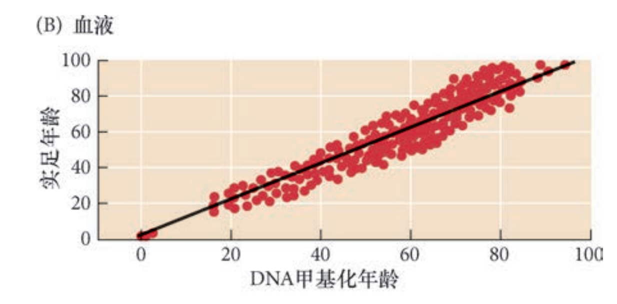


图 23.6　人的实足年龄（*y* 轴）与他（她）的 DNA 甲基化“年龄”（*x* 轴）。每个点对应于唾液（A）中的细胞或血液中的细胞（B）的 DNA 甲基化样品（参考 Horvath 2013）。

科学家讲座 23.1　Silvia Gravina 博士讨论她对老龄化表观遗传调节的研究。

23.3　干细胞与老龄化

老龄化的标志之一是干细胞和祖细胞恢复损伤或无功能组织的能力下降。当 Notch 信号缺失时，肌祖细胞（卫星细胞）的活性下降，导致生物体维持肌细胞功能的能力显著降低。类似地，由于转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 -α（CEBP-α）的下降，年龄依赖的肝祖细胞分裂能力降低会阻碍肝的再生。并且，年龄相关的哺乳动物毛发变白似乎是由于毛囊隆突中黑素干细胞的凋亡（Nishimura et al. 2005；Robinson and Fisher 2009）。因此，其中一个问题就是：干细胞的功能下降或干细胞微环境对干细胞支持能力的下降是否在一定程度上引起老龄化综合征？

一种检测方法是将一只老龄小鼠与一只幼龄小鼠“融合”在一起。这可以通过一个称为联体的技术来完成，也就是将动物的循环系统通过手术连接起来，使得两只小鼠共享一个血液供应。如果将一只老龄和一只幼龄小鼠进行联体，这种技术被称为**异龄联体**（**heterochronic parabiosis**），老龄小鼠的干细胞将会接触幼龄小鼠血清中的一些因子（反之亦然）。异龄联体被证明能够恢复老龄小鼠的干细胞活性。肌肉干细胞中的 Notch 信号恢

拓展性问题

老龄化是否确是正常发育的一部分？或者，老龄化只是随机的退化？

复到“青春”水平，肌细胞的再生也得到恢复。同样，肝祖细胞重新获得了“年轻”水平的 CCAAT 增强子结合蛋白 -α，具有了再生能力（Conboy et al. 2005；Conboy and Rando 2012）。年轻的血液促进了老年脊髓的修复，逆转了心壁的增厚（肥大），并且刺激了老龄小鼠中新神经元的形成（图 23.7；Villeda et al. 2011，2014；Ruckh et al. 2012）。

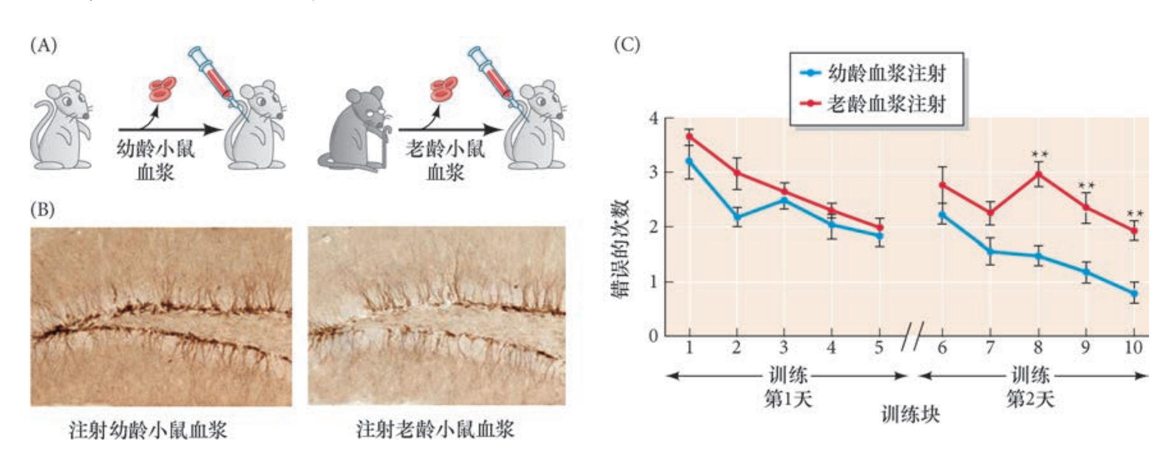


图 23.7 老龄小鼠血浆（血液的液体部分）中的因子在幼龄小鼠中改变新神经元和行为的发育。(A) 幼龄小鼠的血浆被注射到其他幼龄小鼠（左），或老龄小鼠的血浆被注射到幼龄小鼠（右）的实验方案。(B) 接收幼龄血浆的幼龄小鼠继续形成新的神经元（暗染色），而注射老龄血浆的幼龄小鼠中新神经元的数量降低。(C) 在训练完成特定的任务时，接收幼龄或老龄血浆的小鼠最初都出现相同次数的错误。一天后，接收幼龄血浆的老龄小鼠记得它们之前的错误，并且比接收老龄血浆的小鼠出现更少的错误（参考 Villeda et al. 2011）。

Loffredo 及其同事（2013）发现了这个“恢复活力”的血液因素是生长分化因子 -11，它是一个细胞外信号蛋白。生长分化因子 -11 在幼龄小鼠的血液中循环，其水平随年龄而下降。将生长分化因子 -11 输入到老龄小鼠的血液后，年龄相关的肥大被逆转到年轻水平。在脑中，生长分化因子 -11 似乎能抵抗老龄化退化；将生长分化因子 -11 注射到老龄小鼠能增加脑中毛细血管的产生、神经元的形成和嗅觉辨别能力（图 23.8；Katsimpardi et al. 2014；Poggioli et al. 2015）。

因为干细胞不能从一个动物输入到另一个动物，生长分化因子 -11 有可能参与干细胞微环境的功能。目前尚不清楚生长分化因子 -11（或总的来说，年轻的血浆）是否能延长寿命或改善小鼠或人的健康状态（见 Scudellari 2015）。使用干细胞也有危险，细胞增殖不足（导致衰老）和过度增殖（导致癌症）之间存在一个精细的平衡。

网络话题 23.1 **细胞老年化和老龄化** 有可能存在一个与干细胞相反的状态。“老年化细胞”产生一些似乎能引起很多老龄化综合征的旁分泌因子。

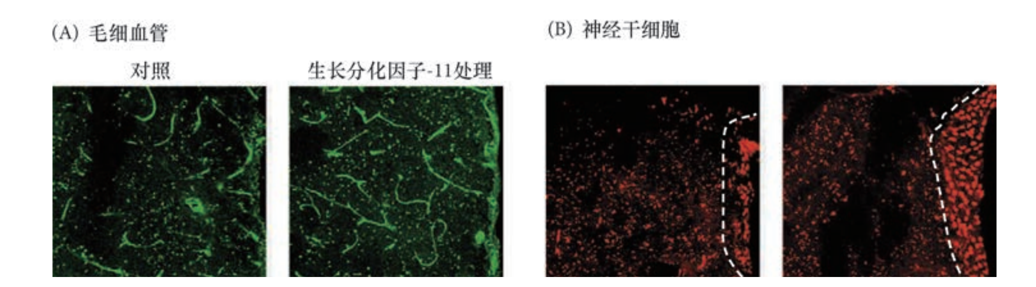


图 23.8 一个可能的“恢复活力”因素。血源性旁分泌因子生长分化因子 -11 在小鼠脑中促进血管重塑（A）和神经发生（B）。显微照片显示脑齿状回的一个区域，新的毛细血管或神经干细胞被染色。生长分化因子 -11 处理的脑来自 22 月龄（老龄）小鼠，用生长分化因子 -11 进行为期 4 周的注射（来自 Katsimpardi et al. 2014，由 L. Katsimpardi 和 L. Rubin 提供）。

科学家讲座 23.2　Nadia Rosenthal 博士讨论干细胞被用于终止或逆转老龄化过程的方式。

拓展性问题

诱导多能干细胞怎样将老龄化、退化和发育联系起来？

23.4　老龄化规则的一些例外

在少数物种中老龄化似乎是可有可无的，这可能为了解动物如何存活更长时间和保持健康状态提供了重要的线索。例如，海龟在许多文化中都是长寿的象征。很多种海龟不但存活的时间长，它们似乎也没有一种典型的老龄化综合征。海龟似乎只有“可以忽略的老年化”，因为它们的死亡率并不随着年龄的增长而增高，生殖率也不随着年龄的增长而下降。在这些物种，老龄的雌性与年轻的雌性能产同样多的卵（如果不是更多的话）。Miller（2001）证明，一只 60 岁的雌性三趾箱龟（*Terrapene carolina triunguis*）每年产卵的数量和以前一样多。如果海龟的端粒随着年龄的增长而缩短，它的发生（像海龟的很多事情一样）也极其缓慢（Girondot and Garcia 1998；Hatase et al. 2008）。有意思的是，海龟对缺氧具有特殊的适应，这些酶也能抵御活性氧化类的作用（Congdon et al. 2003；Lutz et al. 2003；Krivoruchko and Storey 2010）。

在帝王斑蝶（*Danaus plexippus*），迁移到墨西哥中部山区越冬地的成体能生存几个月（8 月到翌年 3 月），而那些处在夏季地区的成体只能生存 2 个月（5～7 月）。这种差异可能受保幼激素的调节（Herman and Tatar 2001）。迁移的帝王斑蝶由于保幼激素的合成被抑制而不育。如果在实验室中为迁移的帝王斑蝶提供保幼激素，它们便能恢复生育力，但却会失去长的寿命。相反，如果将夏季帝王斑蝶的咽侧体移除，使它们不能产生保幼激素（见第 21 章），这样它们的寿命便会增加一倍。果蝇胰岛素信号途径的突变同样能够降低保幼激素的合成（Tu et al. 2005）。保幼激素的降低使得果蝇变小、不育、存活时间长，因此增加了长寿效应对活性氧化类作用的防护。

最后，可能有一些生物，特别是刺胞动物，实际上能够逃脱死亡。如我们在第 22 章看到的那样，水螅似乎是永生的，保留了它们的干细胞群体。水螅类永生水母（*Turritopsis dohrnii*）和介螅水母（*Hydractinia carnea*）是已知的两种刺胞动物在这个主题上演化出显著的变异。这些生物在它们的生命周期中具有一个水螅体时期（类似于水螅）和一个水母体（“水母”）时期。在多数水螅类物种，水螅体产生有性的水母体。水母体产生孕育下一代的配子，然后像多数成体一样，它们衰老并死亡。然而，永生水母和介螅水母的水母体在性成熟之后能返回到水螅体时期（Bavestrello et al. 1992；Piraino et al. 1996），这是一个被称为**逆发育**（**reverse development**）的壮举（Schmich et al. 2007）。多层的水母体主要通过去分化而变成一个双层的球样期，类似于一个幼体变成水螅体之前的时期，然后发育成一个水螅体（图 23.9）。

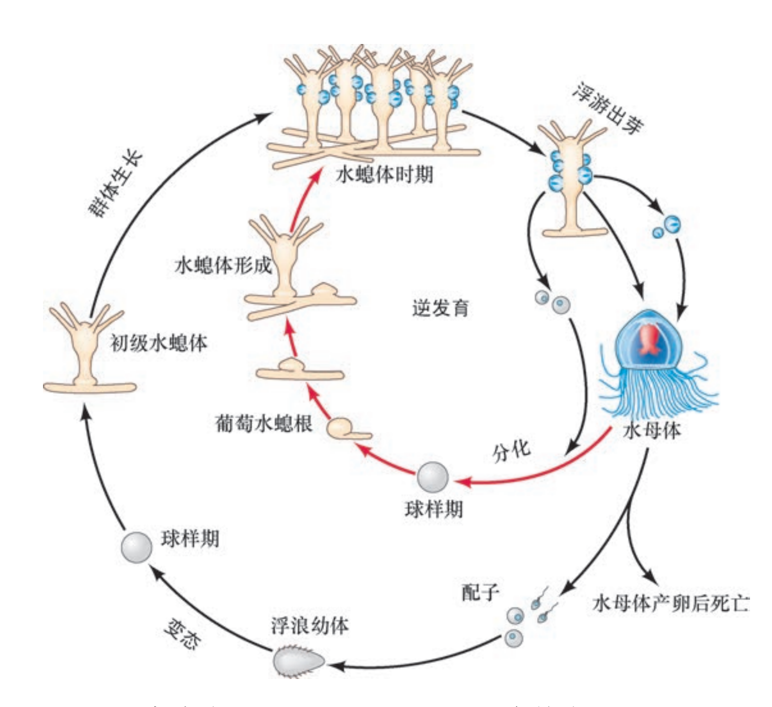


图 23.9　永生水母（*Turritopsis dohrnii*）和介螅水母（*Hydractinia carnea*）的生命周期。在刺胞动物的正常生命周期中，水螅体群体从水母体（水母）芽出后进入海水。经过一个浮游生命时期后，成熟的水母体释放它们的配子。受精发生后成熟的水母体死亡。胚胎形成一个幼体（浮浪幼体），然后这个幼体将自身转变成一个球样期，再产生一个新的水螅体。在永生水母和介螅水母，水母体能进行去分化而进入球样期，这个时期能形成一个水螅体并再次开始生命周期（“逆发育”；红色箭所示）（参考 Schmich et al. 2007）。

下一步的研究

多种相互作用的因素能促进长寿，包括热量限制、氧化应激防护、抑制胰岛素途径所激活的因素、降低 mTORC1 信号影响的因素（如蛋白质翻译的降低和自噬的增强）；干细胞及其微环境也可能有关键作用。下一步的研究是将这些因素整合到一些可以预测生物体寿命的途径中，以及帮助个体健康地生活到生命的尽头。如果我们不去关注这个普遍的老龄化综合征，我们就有可能像提索奥努斯（Tithonos）那样结束生命，希腊神话中这个悲惨的可怜人物被造物主赐予永生，但却不能青春永驻。





开篇图的思考

水螅类刺胞动物（*Turritopsis dohrnii*）似乎能够逃脱死亡，使其被冠以"永生水母"的绰号。它是已知在达到成体形态（有性水母体；见图 23.9）后能够恢复到类似于胚胎状态的极少数刺胞动物之一。干细胞在这种逆发育中的作用，以及这个过程是否可被用于人类器官还有待进一步的研究，但知道这种生物的存在的确很有趣（照片为 Yiming Chen/Getty Images 版权所有）。

23 要点总结

老龄化和老年化

1. 一个物种的最高寿命是这个物种中一个个体生存的最长时间。生命期望通常被定义为特定种群中约 50% 的成员仍然生存的年龄。
2. 老龄化是生存和生殖所需的一些生理功能随时间的退化。老年化的表型变化（影响一个物种的所有成员）不能与老年化疾病相混淆，如癌症和心脏病（这些疾病影响一些个体而不影响其他个体）。
3. 活性氧化类能破坏细胞膜、使蛋白质失活、使 DNA 发生突变。改变活性氧化类的产生或降解能力的突变能使寿命发生变化。
4. 调节 DNA 修复和细胞分裂的蛋白质（如 p53 和端粒酶）可能是老龄化的重要调节物。
5. 胰岛素信号途径，包括胰岛素受体和胰岛素样蛋白，可能是遗传对寿命限制的一个重要部分。它能上调 mTORC1 并下调 Foxo 转录因子。
6. 随机的 DNA 甲基化似乎随着细胞的老龄化而抑制基因的表达。参与染色质修饰的酶可能是这种老龄化事件的重要介导物。
7. 在很多情况下，老龄化表型是干细胞或祖细胞凋亡的结果。
8. 少数动物物种（如海龟）呈现"可忽略的老年化"，因为它们的死亡率不会随着年龄的增长而增高，生殖率也不会随着年龄的增长而降低。一些刺胞动物似乎是永生的。

拓展阅读

Blackburn, E. H., E. S. Epel and J. Lin. 2015. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science* 350: 1193–1198. (*Note:* The December 4, 2015, issue of *Science* focuses on aging and contains several relevant articles.)

Fraga, M. F. and 20 others. 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 10604–10609.

Johnson, S. C., P. S. Rabinovitch and M. Kaeberlein. 2013. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature* 493: 338–345.

Kenyon, C. J. 2010. The genetics of ageing. *Nature* 464: 504–512.

Underwood, E. 2015. The final countdown. *Science* 350: 1188–1190.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 24 章

健康和疾病中的发育

出生缺陷、环境激素和癌症

“哺乳动物发育令人神奇的地方，不是它有时会出现错误，而是它总能成功”，英国医学遗传学家 Veronica van Heyningen（2000）曾这样说过。我们每个人的存在的确很神奇，因为只有少数的人类胚胎成功发育到出生。最近的数据（Mantzouratou and Delhanty 2011；Chavez et al. 2012）显示，只有 20% ～ 50% 的人类卵裂期胚胎能成功地植入子宫。很多人类胚胎都会有染色体异常，这些异常出现得非常早以至于胚胎不能植入而使发育自然终止（流产），并且这通常是在妇女发现自己怀孕之前。20 世纪 80 年代的一些研究显示，在那些的确成功植入子宫的胚胎中只有 40% 生存了下来（Edmonds et al. 1982；Boué et al. 1985）。进一步的研究（Winter 1996；Epstein 2008）估算，大约 2.5% 的新生儿有可见的出生缺陷。

那么多基因、细胞和组织同时变得有组织化并且一起变化，一些发育事件不能正确发生也就不足为奇了。尽管身体有非凡的备份途径和冗余，能赋予很大程度的可塑性，但如果一些发育现象在它们应该

一只六趾的猫，这样的异常会有用吗？



要点

发育有时（甚至经常）出现错误。遗传和染色体突变能删除基因、破坏基因功能，或使基因或蛋白质在错误的时间或位置激活，所有这些都能引起先天异常（出生缺陷）。致畸因子是环境中的化学物质（如酒精和视黄酸），能阻止特定的基因或蛋白质行使功能，或在错误的位置和时间激活一些发育过程。环境激素是环境中的化学物质（如双酚 A 和乙蔗酚），能激活或阻断激素功能，因此改变正常发育。一些发育途径在成体中被重新激活或受到抑制时能产生肿瘤，导致异常的细胞增殖。与出生缺陷一样，癌症能被遗传变异、环境物质或偶然事件诱导发生。

激活时却没有激活，或在它们需要被抑制的时候却被激活，不正常的表型就会出现。以下三种主要途径能导致异常发育。

1. 遗传机制。基因的突变或染色体数目的变化能改变发育。
2. 环境机制。来自体外的因素（通常是化学物质），通过抑制或增强发育信号能引起有害的表型变化。
3. 随机（任意）事件。偶然性对表型的决定也有作用，并且一些发育异常仅是因为“运气不好”（Molenaar et al. 1993；Holliday 2005；Smith 2011）。

这一章的大部分内容将涉及遗传和环境影响[1]，但我们首先简单描述一下随机事件的作用。

24.1 偶然性的作用

尽管医生和研究人员通常把发育异常归因于内在（遗传）途径和外界（环境）因素，他们现在也开始更多地考虑随机因素（即随机性）在发育缺陷中的作用。即使一个具有野生型基因并在一个有利环境中发育的胚胎，也可能因为“运气不好”而产生异常的表型。发育的结果是概率性的而不是预先决定的（Wright 1920；Gottlieb 2003；Kilfoil et al. 2009）。例如，我们可以考虑一下 X 染色体在雌性动物中的失活。如果一个妇女携带一个正常的和一个突变的 X 连锁的血凝因子等位基因，从统计学的角度，我们可以预期野生型等位基因有可能在大约 50% 的细胞中被失活。如果这个野生型等位基因在产生血凝因子的一半肝细胞中失活，她会有正常的表型。但是，如果在偶然的情况下，95% 的野生型 X 染色体在那些肝细胞中失活，这将会发生什么样的情况？因为只有 5% 的 X 染色体能表达野生型等位基因，所以她将会有异常的表型。的确，在女性同卵双胞胎中出现过这种情况，其中一个双胞胎，偶然性使她携带的正常血凝因子等位基因的 X 染色体发生大比例的失活，这个双胞胎患有严重的血友病（血不能凝固）；而另一个双胞胎，只有很少比例的正常 X 染色体失活，她就没有受到任何影响（Tiberio 1994；Valleix et al. 2002）。

这样的变异性不仅局限于 X 染色体的基因。在单细胞水平上检测基因的表达显示，蛋白质合成是一个随机的过程，转录和翻译都呈现随机波动，导致任何特定时间内产生的蛋白质水平发生变化（Raj and van Oudenaarden 2008；Stockholm et al. 2010）。细胞特化、发育信号和细胞迁移被认为都会受到在特定时间产生的转录因子、旁分泌因子和受体水平的偶然波动的影响。因此，相同遗传背景的动物在完全相同的环境下饲养时也能有极大的表型差异（Gilbert and Jorgensen 1998；Vogt et al. 2008；Ruvinsky 2009），并且基因表达的随机波动能导致发育异常。数学建模使科学家能够研究这些随机事件，使研究人员能“定量地证明发育是随机和预定事件的一个组合，为偶然性如何影响正常发育和引起出生缺陷提供了新的认知”（Zhou et al. 2013）。

24.2 人类发育的遗传错误

先天性（“出生时就存在”）异常及自然流产都有内在和外界的原因。那些通过遗传事件引起的异常可能来自突变、染色体非整倍性（不正确的染色体数）和染色体易位（Opitz 1987）。

24.2.1 一些人类综合征的本质

从危及生命到相对比较温和的人类出生缺陷经常被关联到一些**综合征**（**syndrome**，希腊语的意思是“一起运作”），即多种异常一起发生。遗传性综合征产生自：①一个染色体事件（如非整倍性），其中多个基因被删除或被添加；②**多效性**（**pleiotropy**），即一个基因或一对基因产生多重效应（见 Grüneberg

[1] 这一章主要关注人类健康并提供关于各种医学问题的基本信息。它不是试图为特定的人或特定的缺陷提供医学建议。关于发育和疾病的更全面信息，请见 Gilbert and Epel（2015）。

1938；Hadorn 1955）。如果一些影响独立地产生自一个对身体不同部分都很重要的基因（图 24.1A），这样的综合征被认为是具有**嵌合多效性**（**mosaic pleiotropy**）。例如，*KIT* 基因表达在血干细胞、色素干细胞和生殖干细胞，并且参与这些细胞的增殖。这个基因的功能缺陷所导致的贫血症（缺少红细胞）、白化病（缺少色素细胞）和不育性（缺少生殖细胞）就是嵌合多效性的证据。如果胚胎中一个位置的基因功能出现异常而影响到胚胎的另一个位置，即便是这个基因在那个位置不表达（图 24.1B），这样的综合征也被认为是具有**相关多效性**（**relational pleiotropy**）。例如，小眼畸形相关转录因子的基因在色素视网膜的表达缺失后使这个结构不能完全分化。色素视网膜生长的缺陷进而引起眼的脉络膜裂畸形，导致玻璃体液排放。没有这个液体，眼就不能扩大（因此称为小眼畸形，即“小眼睛”）；晶状体和角膜也随之变小，即便是它们并不表达小眼畸形相关转录因子。

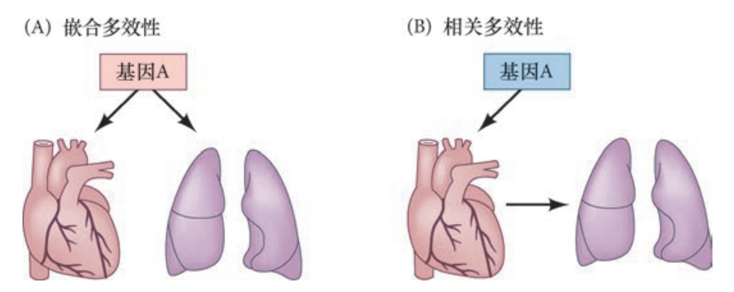


图 24.1　嵌合和相关多效性。(A) 在嵌合多效性中，一个基因独立表达在几个组织。每个组织都需要这个基因的产物，缺少该基因产物将导致这些组织发育异常。(B) 在相关多效性中，一个基因的产物只在一个特定的组织中起作用。但是，第二个组织需要来自第一个组织的信号才能正常发育。如果第一个组织的发育异常，这个信号就不能被输出，因此第二个组织也出现发育异常。

嵌合性综合征也能产生自**非整倍性**（**aneuploidy**），即特定染色体的数目出现错误。即便是极少部分的 21 号染色体出现一个额外副本，也能干扰众多的发育功能。这种 **21 三体综合征**（**trisomy 21**）导致一系列异常，统称为**唐氏综合征**（**Down's syndrome**），包括面部肌肉、心脏和肠道畸形，以及认知障碍（图 24.2）。21 号染色体的基因被认为编码一些转录因子和调节性微 RNA，额外的副本很可能导致这些调节物的过量产生。这样就会使心脏、肌肉和神经形成所需的基因出现错误调节（Chang and Min 2009；Korbel et al. 2009）。其中一个编码在 21 号染色体上的调节性微 RNA 是 miRNA-155，它在人的胎儿整个发育过程中都表达。这个微 RNA 下调一些对神经和心脏正常发育所需的转录因子的翻译，并且在唐氏综合征患者的脑和心脏中的表达显著增高（Elton et al. 2010；Wang et al. 2013）。

(A)

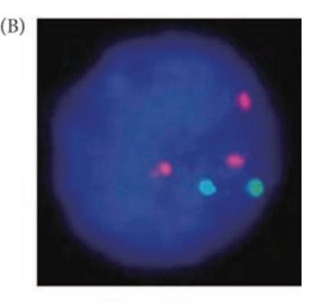
(B)


图 24.2　唐氏综合征。(A) 21 号染色体的第三个副本引起的唐氏综合征的特征表现在特殊的面部图式、认知缺陷、鼻骨缺失，并且经常有心脏和胃肠道缺陷。(B) 这里显示的图利用结合 21 号染色体（粉色）和 13 号染色体（蓝色）DNA 的荧光标记探针来检测染色体数目。这个人患有唐氏综合征（21 三体综合征），但有正常的两条 13 号染色体（A 图为 MoodBoard/Alamy 版权所有；B 图由 Vysis，Inc 提供）。

24.2.2　遗传和表型异质性

在多效性中，相同的基因在不同组织中产生不同的影响。但是，相反的现象同样也是遗传综合征的重要特征：不同基因的突变导致相同的表型。如果几个基因参与同一个信号转导途径，那么任何一个基因的突变通常会产生类似的表型。不同基因的突变产生类似表型的这种现象称为**遗传异质性**（**genetic heterogeneity**）。缺失 Kit 蛋白引起的不育性、贫血症和白化病（如上所述）也能在它的旁分泌因子配体（干细胞因子）缺失时发生。另一个例子是独眼（见图 4.31B），Sonic hedgehog（Shh）的基因发生突变、

Shh 激活的基因发生突变、控制胆固醇合成的基因（因为胆固醇对 Shh 信号传递是必需的）发生突变时都能导致这个表型。

不仅是不同的突变能产生相同的表型，相同的突变在不同个体中也会产生不同的表型（Wolf 1995，1997；Nijhout and Paulsen 1997），这个现象称为**表型异质性**（**phenotypic heterogeneity**）。表型异质性的产生是因为基因并不是自主的体系；相反，它们与另一些基因或基因产物相作用，被整合到复杂的途径和网络。Bellus 及其同事（1996）分析了 10 个不相关的家庭中相同的成纤维细胞生长因子受体 -3 基因突变所导致的表型。这些表型包括相对轻微的异常到潜在的致死性畸形。类似地，Freire-Maia（1975）报道，在一个家庭中，影响肢发育的一个突变基因在纯合状态时产生的表型包括严重的短肢（肢发育缺失）到轻微的拇指异常。一个突变基因产生影响的严重程度经常取决于途径中的其他基因，以及环境和随机因素。

网络话题 24.1 **胚胎植入前遗传学** 在单细胞中鉴定等位基因变异的能力使医学专家能确定一个胚胎是否携带不良基因。这个方法也能使人们确定胚胎的性别，使父母仅将所渴望的性别的胚胎植入子宫。

24.3 畸形发生：环境侵害对动物的发育

在 1962 年的夏天发生了两件可怕的事情。第一件是 Rachel Carson 出版了具有里程碑意义的一本书——《寂静的春天》，她在书中例证，杀虫药滴滴涕损害鸟卵并能阻止多个物种的生殖。她的工作推动了现代环境保护运动。第二个事件是发现沙利度胺——一个用于抑制妊娠反应的镇静剂，能使人类胎儿的肢和耳出现异常（Lenz 1962；见第 1 章）。这两个真相的披露证明胚胎易受环境物质的侵害。的确，Rachel Carson 分析了因果关系，做出了这样的评论：“沙利度胺和杀虫药完全一样。它们都代表了我们急于发展和不计后果地使用某些东西的倾向”（Carson 1962）。

网络话题 24.2 **沙利度胺是致畸因子** 沙利度胺药物导致了数千婴儿在出生时有畸形的手臂和腿。它提供了药物能诱导先天异常的首个主要证据。对这个药的作用机制仍有激烈的争议。

引起出生缺陷的外源因素（**表 24.1**）称为**致畸因子**（**teratogen**）。多数致畸因子在一些关键的时间段产生作用。人的发育通常被分成一个**胚胎期**（**embryonic period**，即前 8 周）和一个**胎儿期**（**fetal period**，即在子宫内剩余的时间）。多数器官系统都在胚胎期形成；胎儿期一般是生长和成形的时期。因此，最易受致畸因子影响的时期是第 3 ～ 8 周（**图 24.3**）。但是，神经系统却持续发生，并且在整个发育过程都易受影响。在第 3 周前，致畸因子通常不会产生先天异常，因为在这个时期致畸因子或者破坏胚胎的大部分或所有细胞而导致胚胎死亡，或者只损伤少数细胞而胚胎能完全恢复正常。

科学家讲座 24.1 美国史密斯学院的学生录制的视频，解释畸形学和内分泌干扰的基础。

最大的一类致畸因子包括药物和化学物质。病毒、辐射、高体温和孕妇的代谢状态也能作为致畸因子。环境中自然存在的一些化合物也能导致出生缺陷。例如，蒜藜芦碱和环巴胺是加州百合科植物（*Veratrum californicum*）的产物，能阻断 Sonic hedgehog 信号并能导致独眼（见图 4.31B）。尼古丁是浓缩在烟草烟雾中的自然产物，与肺和脑的发育障碍有关联（Dwyer et al. 2008；Maritz and Harding 2011）。一些病毒能引起先天异常，如蚊子传播的寨卡病毒与小头畸形相关，这是一种以脑和头部变小为特征的出生缺陷（CDC 2016；Mlakar et al. 2016）。有证据显示，寨卡病毒在孕妇中直接感染胎儿皮质的神经祖细胞，导致这些细胞死亡，这使新生儿形成一个小的脑和头部（Tang et al. 2016）。

尽管不同因素在不同生物中有致畸作用（见 Gilbert and Epel 2015），一些动物已被用于筛选具有高危

表 24.1　对人类胎儿发育可能有干扰作用的物质[a]

药物和化学物质	
酒精	丙戊酸（2- 丙基戊酸）
氨基糖苷类抗生素（庆大霉素）	华法林
氨基蝶呤（叶酸的类似物）	**电离辐射（X 射线）**
抗甲状腺药（丙基硫氧嘧啶）	**高体温（发烧）**
溴	**感染性微生物**
可的松	柯萨奇病毒
乙底酚（又称二乙基己烯雌酚）	巨细胞病毒
苯妥英（一种抗惊厥药）	单纯疱疹
海洛因	细小病毒
铅	风疹
甲基汞	弓形虫（弓形虫病）
青霉胺	梅毒螺旋体（梅毒）
视黄酸（异维甲酸，以 Accutane 商标出售的药物）	寨卡病毒
链霉素	**孕妇代谢状态**
四环素	自身免疫病（包括 Rh 因子不相容性）
沙利度胺（反应停；一种镇静剂）	糖尿病
三甲双酮（一种抗癫痫药）	饮食不足、营养不良
	苯丙酮尿症

[a] 这个表中列举了一些已知和潜在的致畸因素，但并非详尽无遗。

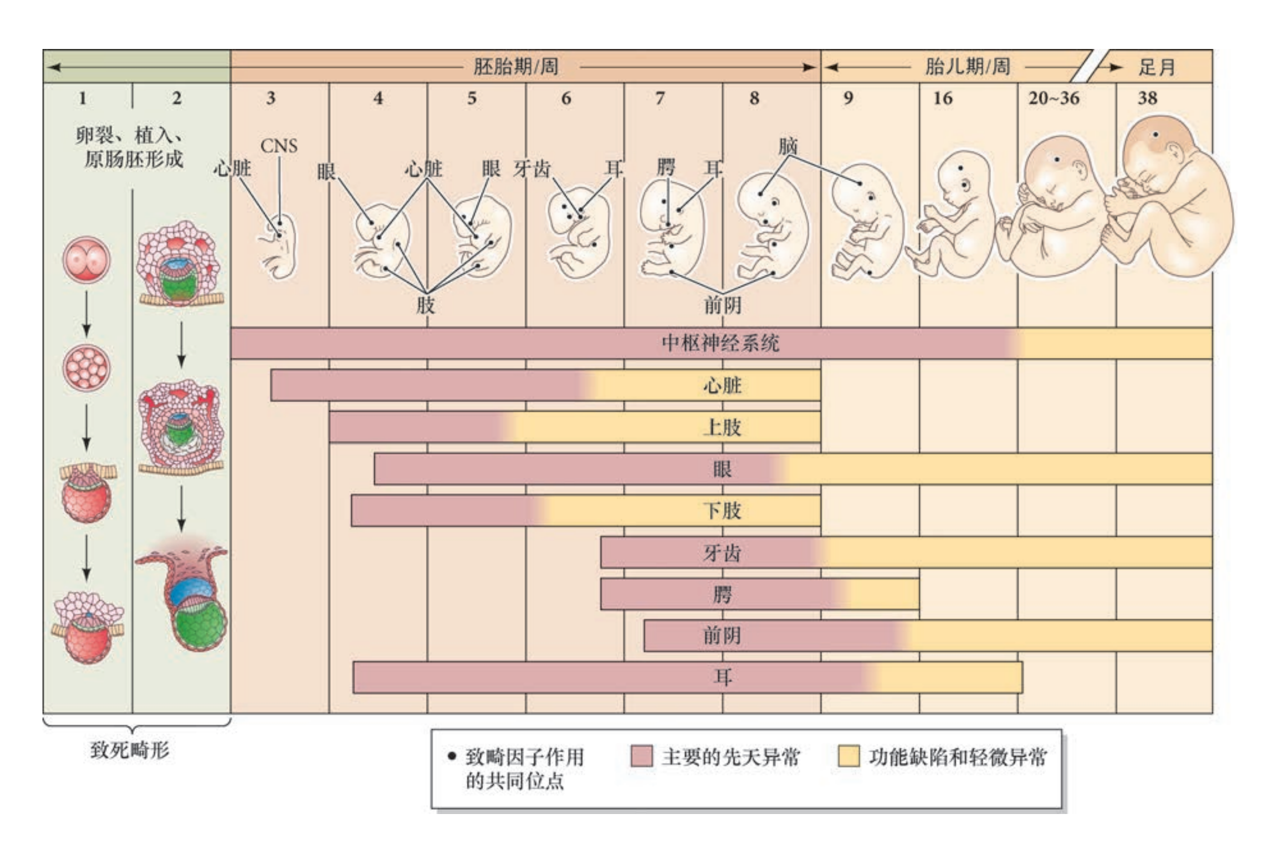


图 24.3　妊娠周和胚胎器官对致畸因子的敏感性。CNS：中枢神经系统（参考 Moore and Persaud 1993）。

正常 被影响





图 24.4 深水地平线溢油的水溶性原油成分对斑马鱼有致畸作用。与同时期的正常斑马鱼相比，暴露于溢油成分的斑马鱼胚胎有严重的发育缺陷，包括与颅神经嵴迁移相关的头部、腮和胸部软骨（蓝色染色）变小（来自 de Soysa et al. 2012）。

险性的化合物。我们在第 11 章和第 12 章已经描述，非洲爪蛙和斑马鱼与我们使用相同的基本旁分泌因子和转录因子进行早期发育。这些模式生物对鉴别环境中的致畸因子有重要作用。例如，利用斑马鱼的研究发现，来自 2010 年墨西哥湾深水地平线溢油事件的一些水溶性原油成分导致众多能够追溯到神经嵴细胞迁移的发育异常（图 24.4；de Soysa et al. 2012）。

拓展性问题

在美国，孕妇被告诫不要饮用靠近废弃矿井的湖水。你认为这个提醒有必要吗？为什么？

科学家讲座 24.2 Daniel Gorelick 博士讨论使用转基因斑马鱼作为模式生物来检测水中的双酚 A 及其他发育干扰性化合物。

24.3.1 酒精是一种致畸因子

就其影响的发生率和对社会的负担而言，最具破坏性的致畸因子无疑是酒精（乙醇）。具有**胎儿酒精综合征**（**fetal alcohol syndrome**，**FAS**）的婴儿表现出头部变小、模糊的人中（位于上唇中间，鼻和嘴之间的一对隆起）、上唇的窄唇红缘，以及低鼻梁（Lemoine et al. 1968；Jones and Smith 1973）。这样的儿童的脑可能比正常儿童的脑显著更小，并且通常发育不良，这是神经元和神经胶质细胞迁移缺陷所造成的后果（图 24.5A，B；Clarren 1986）。胎儿酒精综合征是最常见的先天性智力低下综合征，在美国，大约每 650 个新生儿中会出现一例（May and Gossage 2001）。尽管具有胎儿酒精综合征的儿童之间智商差异很大，但平均值大约是 68（Streissguth and LaDue 1987）。多数患有胎儿酒精综合征的成人和青少年不会管钱，并且有从以往的经验中学习的困难。

胎儿酒精综合征仅代表产前暴露于酒精所导致的一系列缺陷的一部分。**胎儿酒精谱系障碍**（**fetal alcohol spectrum disorder**，**FASD**）这个术语被用来涵盖酒精引发的所有畸形和功能缺陷。很多患有胎儿酒精谱系障碍的儿童会表现出一些行为异常，但却没有头部大小的任何变化或明显的智商降低（NCBDD 2009）。然而，使用能够识别脑神经束的新技术发现了一些与心理处理速度和执行能力（如规划、记忆和保留信息）的改变相关的细微异常（图 24.5C，D；Wozniak and Muetzel 2011）。

与其他致畸因子一样，胎儿暴露于酒精的剂量和时间，以及胎儿的遗传背景，都会影响发育的最终结果。孕妇代谢酒精能力的差异也会产生不同的结果（Warren and Li 2005）。尽管胎儿酒精谱系障碍与高水平的酒精消费密切有关，但动物实验的结果显示，在孕期即便是一次性地消费相当于两杯的酒精饮料也能引起胎儿脑细胞的缺失（“一杯酒”被定义为 12 盎司的啤酒、5 盎司的葡萄酒或 1.5 盎司的烈性酒；1 盎司相当于 29.5735 mL）。值得注意的是，酒精能在多数孕妇还没有意识到自己怀孕的时候就会对胎儿造成永久性的损伤。

酒精如何影响发育：来自小鼠的教训 如果小鼠胚胎在原肠胚形成时暴露于酒精，酒精诱导的面部和脑部缺陷与人类胎儿酒精综合征的表型类似（图 24.6；Sulik 2005）。与人类胎儿一样，暴露于酒精的幼鼠的鼻部和上唇发育不良，神经系统的异常包括神经管没有闭合和前脑没有完全发育（见第 13 章和第 14 章）。这种胎儿酒精综合征的小鼠模型可被用来研究酒精在胚胎中产生影响的机制。

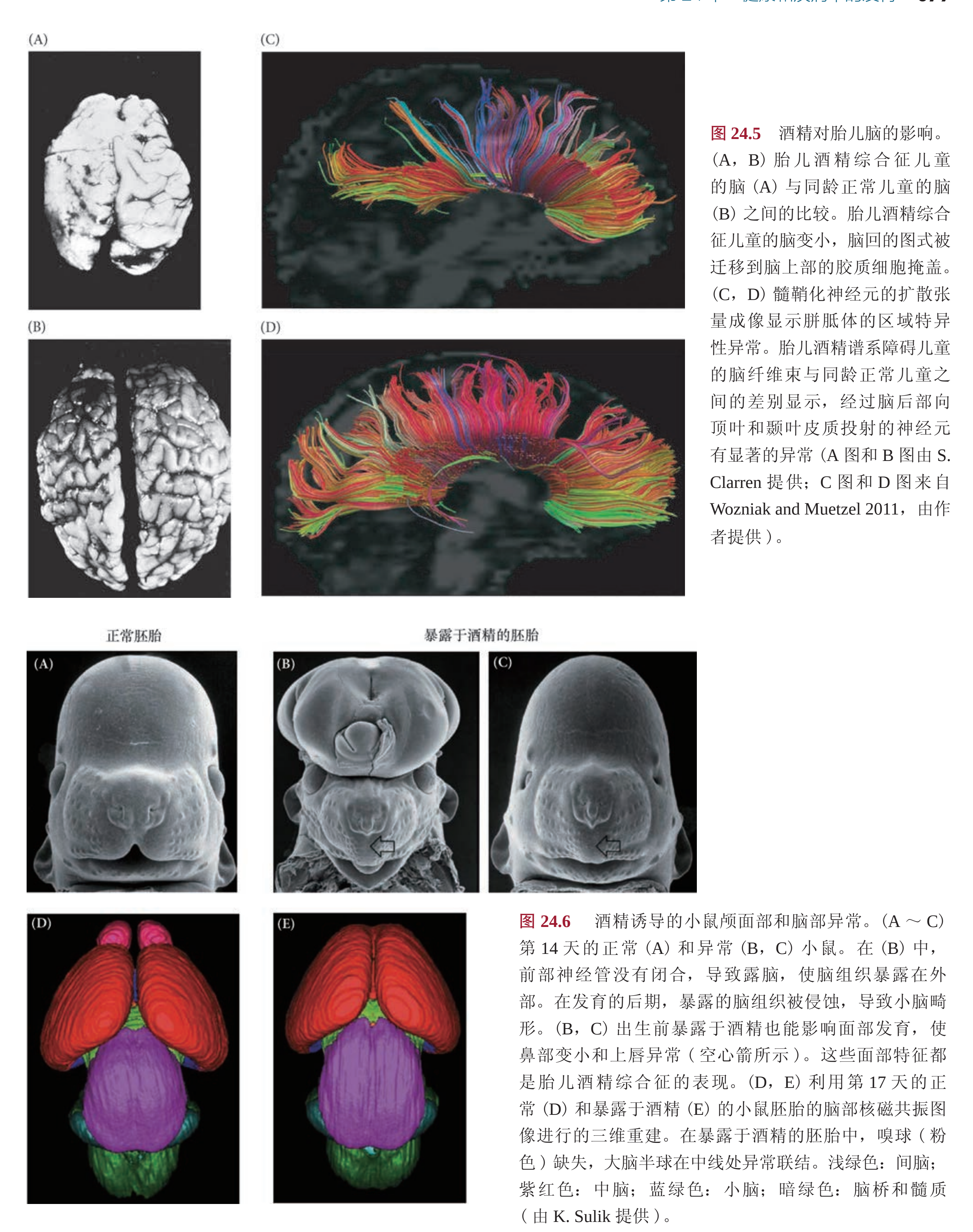


图 24.5　酒精对胎儿脑的影响。(A，B) 胎儿酒精综合征儿童的脑 (A) 与同龄正常儿童的脑 (B) 之间的比较。胎儿酒精综合征儿童的脑变小，脑回的图式被迁移到脑上部的胶质细胞掩盖。(C，D) 髓鞘化神经元的扩散张量成像显示胼胝体的区域特异性异常。胎儿酒精谱系障碍儿童的脑纤维束与同龄正常儿童之间的差别显示，经过脑后部向顶叶和颞叶皮质投射的神经元有显著的异常（A 图和 B 图由 S. Clarren 提供；C 图和 D 图来自 Wozniak and Muetzel 2011，由作者提供）。

图 24.6　酒精诱导的小鼠颅面部和脑部异常。(A ～ C) 第 14 天的正常 (A) 和异常 (B，C) 小鼠。在 (B) 中，前部神经管没有闭合，导致露脑，使脑组织暴露在外部。在发育的后期，暴露的脑组织被侵蚀，导致小脑畸形。(B，C) 出生前暴露于酒精也能影响面部发育，使鼻部变小和上唇异常（空心箭所示）。这些面部特征都是胎儿酒精综合征的表现。(D，E) 利用第 17 天的正常 (D) 和暴露于酒精 (E) 的小鼠胚胎的脑部核磁共振图像进行的三维重建。在暴露于酒精的胚胎中，嗅球（粉色）缺失，大脑半球在中线处异常联结。浅绿色：间脑；紫红色：中脑；蓝绿色：小脑；暗绿色：脑桥和髓质（由 K. Sulik 提供）。

酒精似乎作用于多个过程，并且能干扰细胞迁移、增殖、黏附和存活。Hoffman 和 Kulyk（1999）显示，暴露于酒精的胎儿的神经嵴细胞过早地分化成面部软骨，而不是继续迁移和分裂。在小鼠胚胎中有很多受酒精影响而被错误调节的基因，其中包括一些参与细胞骨架重排和促使细胞运动的基因（Green

et al. 2007）。另外，在暴露于酒精后的很短一段时间内就会出现细胞死亡。小鼠胚胎在发育后期暴露于酒精时，神经嵴来源的细胞在 12 h 就开始死亡。如果酒精暴露的时间相当于人类胚胎发育的第 3 周和第 4 周，应该形成前脑中部、面中部上侧和颅神经的细胞就会被杀伤。这个结果在鸡胚胎中得到了证明，瞬时接触相当于环境剂量（大约 25 mmol/L）的酒精能大量杀伤迁移中的神经嵴细胞，导致整个头部区域的细胞死亡（Flentke et al. 2011）。

小鼠胚胎中细胞死亡的一个原因是酒精处理能产生破坏细胞膜的超氧自由基（**图 24.7A ～ C**；Davis et al. 1990；Kotch et al. 1995；Sulik 2005）。在模式动物中，抗氧化剂能有效地降低酒精引起的细胞死亡和畸形（Chen et al. 2004）。

异常的信号也会导致过度的细胞死亡。在暴露于酒精的胚胎中，Sonic hedgehog（对建立面部中线结构有重要的作用）的表达被下调。尽管这种下调的机制仍不完全清楚，将分泌 Shh 的细胞置入头部间充质能阻止酒精诱导的颅神经嵴细胞死亡，这个发现说明 Shh 信号途径可能是酒精诱导的畸形发生的重要靶点（Ahlgren et al. 2002；Chrisman et al. 2004）。

酒精参与的畸形发生的另一个可能机制是酒精能干扰细胞黏附分子 L1 对细胞的黏附作用。Ramanathan 及其同事（1996）证明，即使是在 7 mmol/L 的低水平下（这是喝一杯酒后血液或脑中的酒精浓度），酒精也能在体外阻断 L1 蛋白的黏附功能（**图 24.7D**）。而且，人的 *L1* 基因突变引起一种与胎儿酒精综合征严重病例类似的智力低下和畸形的综合征。因此，酒精能穿过胎盘、进入胎儿、阻断脑和面部发育的一些关键功能。

科学家讲座 24.3 Kathy Sulik 博士讨论胎儿酒精综合征的生物学基础。

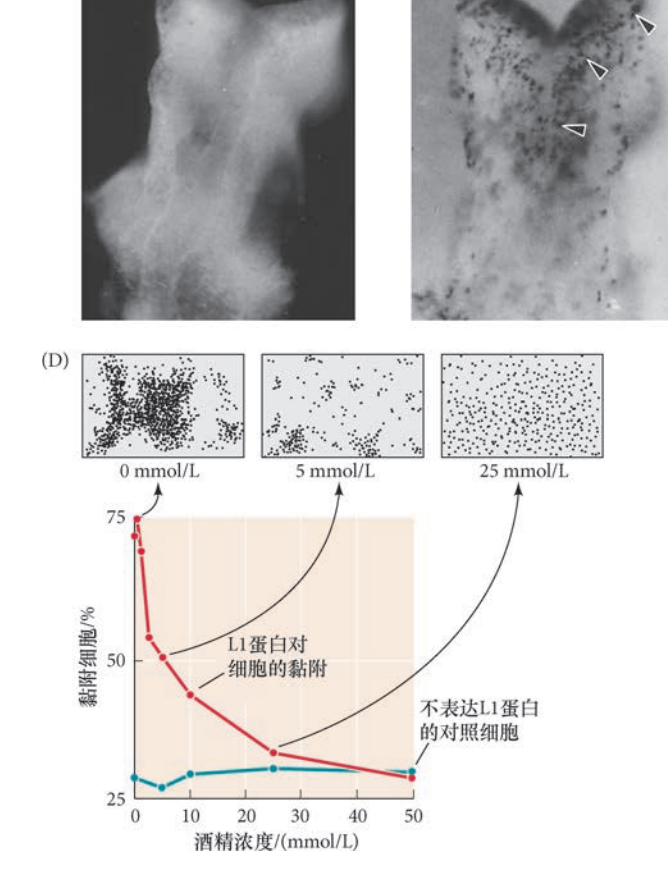


图 24.7 引起胎儿酒精综合征的可能机制。（A ～ C）酒精诱导的超氧自由基所导致的细胞死亡。硫酸尼罗蓝染色显示细胞死亡的区域。（A）第 9 天的对照小鼠的头部。（B）酒精处理的胚胎的头部，显示细胞死亡的区域（箭头）。（C）酒精和超氧化物歧化酶（超氧自由基的抑制物）处理的胚胎头部。超氧化物歧化酶阻止酒精诱导的细胞死亡。（D）酒精抑制 L1 蛋白介导的细胞黏附（A ～ C 图来自 Kotch et al. 1995，由 K. Sulik 提供；D 图参考 Ramanathan et al. 1996）。

24.3.2　视黄酸是致畸因子

在某些情况下，即便是参与正常发育的化合物，如果它的含量过高或出现在特定的时间，也会产生有害作用。如我们在全书中看到的那样，视黄酸是维生素 A 的一个衍生物，对特化前 - 后轴，以及在哺乳动物的颌和心脏形成中有重要作用。药物形式的 13- 顺式视黄酸（也称为异维甲酸，以 Accutane 商标出售）对治疗囊肿性痤疮有很好的疗效，并在 1982 年被投入市场。给予怀孕动物大量视黄酸（或它的维生素 A 前体）的有害作用自 20 世纪 50 年代以来就已为人知（Cohlan 1953；Giroud and Martinet 1959；Kochhar et al. 1984）。但是，大约有 16 万育龄（15 ～ 45 岁）的妇女使用了异维甲酸，其中一些妇女是在孕期服用了这个药。现在，含异维甲酸的药都标注了孕妇禁用的明显警告。在美国，视黄酸摄入是一个严重的公共健康问题，这是因为使用痤疮药物的群体与育龄妇女群体有显著的重叠，也是因为在美国大约有 50% 的怀孕是未计划的（Finer and Zolna 2011）。

Lammer 及其同事（1985）研究了一组无意中摄入视黄酸并且仍选择继续怀孕的女性。在 59 个胎儿中，26 个胎儿在出生时没有明显的异常，12 个自然流产，21 个在出生时有明显的异常。受影响的儿童具有特征性的耳朵缺失或缺陷、颌缺失或变小、腭裂、主动脉弓异常、胸腺缺陷及神经系统异常。这些畸形主要是因为颅神经嵴细胞不能正常迁移到面部的咽弓以形成颌和耳所造成的（Moroni et al. 1994；Studer et al. 1994）。放射性同位素标记的视黄酸能结合颅神经嵴细胞并中断它们的增殖和迁移（Johnston et al. 1985；Goulding and Pratt 1986）。颅神经嵴细胞受影响的致畸时期在人类胚胎是第 20 ～ 35 天（在小鼠是第 8 ～ 10 天）。

视黄酸很可能通过多种方式干扰这些细胞。其中一种机制是过多的视黄酸激活一个通常维持视黄酸正常水平的负反馈途径。视黄酸的瞬时大量升高进而激活视黄酸降解酶的合成，导致持续性的视黄酸降低。这种视黄酸缺陷导致了畸形的发生（Lee et al. 2012）。这能解释为什么高水平的视黄酸与视黄酸缺陷产生类似的表型。

干扰视黄酸信号可能是一个广泛的公共健康问题还有另外一个原因。有报道显示，基于草甘膦的除草剂（如“农达”）能上调内源视黄酸的活性（Paganelli et al. 2010）。在含有生态浓度的除草剂溶液中孵育非洲爪蛙的胚胎时，视黄酸应答性报道基因的激活受到显著的改变，胚胎呈现出颅神经嵴缺陷和面部异常，与视黄酸引起的畸形发生相类似（**图 24.8**）。在北美，草甘膦是一种最广泛使用（而且是有益的）的除草剂，自 1974 年投入市场以来，其总用量已经超过 180 万 t。它能阻断某些氨基酸合成所需的一个

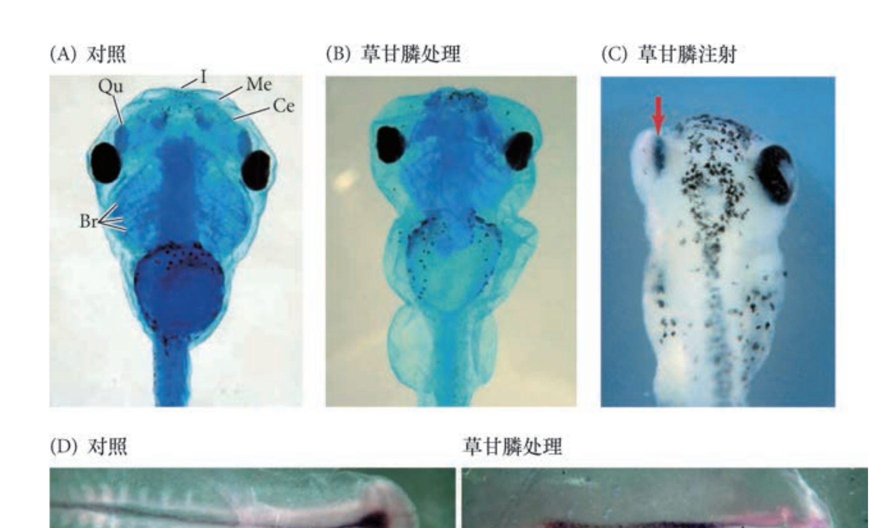


图 24.8　草甘膦除草剂的致畸性。(A) 在对照条件下饲养的非洲爪蛙蝌蚪，阿尔新蓝染色显示面部软骨。Br：鳃软骨；Ce：角舌软骨；I：吻下软骨；Me：麦克尔软骨；Qu：方软骨。(B) 在含有生态浓度的草甘膦中孵育非洲爪蛙蝌蚪并用阿尔新蓝染色。蝌蚪的咽弓和中线面部软骨（颅神经嵴衍生物）不能正常发育。(C) 在胚胎的一侧注射草甘膦（箭所示），这一侧显示颅神经嵴异常。(D) 对照鸡胚胎显示 *sonic hedgehog* 基因表达在脊索（黑色箭所示）和索前中胚层（红色箭所示）。草甘膦处理的鸡胚胎显示 *sonic hedgehog* 在索前（颅面）中胚层的表达严重下调（照片由 A. Carrasco 提供）。

拓展性问题

在美国北部的一些池塘里，很高比例的蛙有6个或更多的肢。这些畸形的可能原因是什么？

植物酶。基因工程的强大能力之一是制造一些像“农达”这样的广谱除草剂，然后培育抵抗这些除草剂的农作物。这就意味着，如果你大面积地喷洒这个除草剂，所有的杂草都会被杀死，剩下的只有那些对草甘膦有抗性的植物。在 2010 年，美国生产的 70% 的玉米和 93% 的大豆都是来自转基因的抗除草剂种子（Hamer 2010）。

网络话题 24.3　成体人类疾病的发育起源　食物能否被看成是一个致畸因子？在某些情况下，哺乳动物在怀孕期间吃的食物可能在胎儿中激活某些基因，使它在生命后期患有或易患某些疾病。

24.4　环境激素：成体疾病的胚胎起源

畸形发生的一个特殊领域涉及发育过程中内分泌系统的失调。环境激素是通过干扰激素的正常功能而干扰发育的外源（来自体外）化学物质（Colborn et al. 1993，1997）。环境激素产生的表型变化并不是典型致畸因子所导致的明显解剖结构出生缺陷。相反，环境激素产生的解剖学异常通常只能在显微水平上观察；而主要的变化是生理性的。这些功能性变化比其他致畸因子引起的变化更加细微，但它们也可能是一些严重的表型变化。环境激素的影响通常只在成体后期才显示出来，并且在暴露于干扰物后能持续多代。

环境激素通过很多方式干扰激素的功能。

- 它们能模拟自然激素的作用。一个范例就是环境激素乙蔗酚，它结合雌激素受体并模拟雌二醇的作用，而雌二醇对构建雌性生殖道组织有很高的活性。
- 它们能作为拮抗剂，抑制激素与受体的结合或阻断一种激素的合成。滴滴伊是杀虫剂滴滴涕的代谢产物，有抗睾酮的作用，它能结合雄激素受体并抑制睾酮正常发挥功能。
- 它们能影响激素在体内的合成、清除和转运。例如，除草剂阿特拉津能升高雌激素的合成，在蛙中能将睾丸转变成卵巢。多氯联苯影响内分泌系统的方式之一是干扰甲状腺激素的清除和降解。
- 一些环境激素能“引导”生物体在生命后期对激素更敏感。我们将会描述，胎儿在发育过程中暴露于双酚 A 能使乳腺组织在青春期对类固醇激素更为敏感。

一直以来，人们都认为只有少数的致畸物质，并且唯一有危险的是那些在怀孕期间不小心暴露于高剂量致畸物质的妇女的胎儿。我们现在认识到环境激素在我们的技术社会中无处不在（包括农村地区，杀虫药和除草剂的用量很大），而且暴露于低剂量的环境激素足以在生命后期产生显著的缺陷。环境激素包括：奶瓶及我们饮水所用的色彩鲜艳的塑料容器的涂料中的化合物；用于美容品、防晒霜和头发染料中的化合物；防止衣服高度易燃的化合物。有这么多化合物，我们就可能会同时和连续地接触不止一种而是多种环境激素。并且，环境激素和典型致畸因子之间的一个重要区别是，“中等”剂量的环境激素可能会比高剂量造成的危害更大，因为高浓度有可能会激活一些解毒或清除化合物的负反馈过程（见 Myers et al. 2009；Belcher et al. 2012；Vandenberg et al. 2012）。

有众多的环境激素，包括乙蔗酚、双酚 A、邻苯二甲酸酯和三丁基锡。其他具有内分泌干扰作用的化合物包括除草剂阿特拉津，以及水力压裂（“液压破碎”）时释放的一些化合物（Gilbert and Epel 2015；Kabir et al. 2015）。我们每天都会遇到很多这样的物质，并且我们在出生前就与其接触。目前人们正在开始研究这种水平的接触对发育的影响（Wild 2005；Rappaport and Smith 2010）。

网络话题 24.4　滴滴涕是一种环境激素　滴滴涕最初被发现对鸟的发育产生有害作用。后来发现它也干扰人的发育。


科学家讲座 24.4　Stéphane Horel 在一个网络专题片中采访一些鉴定环境激素的科学家。

24.4.1　乙底酚

最初鉴定出来的环境激素之一是高活性的环境雌激素**乙底酚**（**diethylstilbestrol，DES**）。这个药被认为能缓解妊娠不适和防止流产，据估计，从 1947 ～ 1971 年，美国有 100 多万孕妇和胎儿被暴露于乙底酚（这可能在世界范围内只占一小部分）。尽管 20 世纪 50 年代的研究证明，乙底酚实际上对妊娠没有益处，直到 1971 年美国食品药品监督管理局禁止使用前，医生一直为孕妇开这个药。禁用这个药的原因是在一些妇女的生殖道中发现了一种特殊类型的肿瘤（透明细胞腺癌），而这些妇女的母亲在怀孕期间服用了乙底酚（图 24.9）。

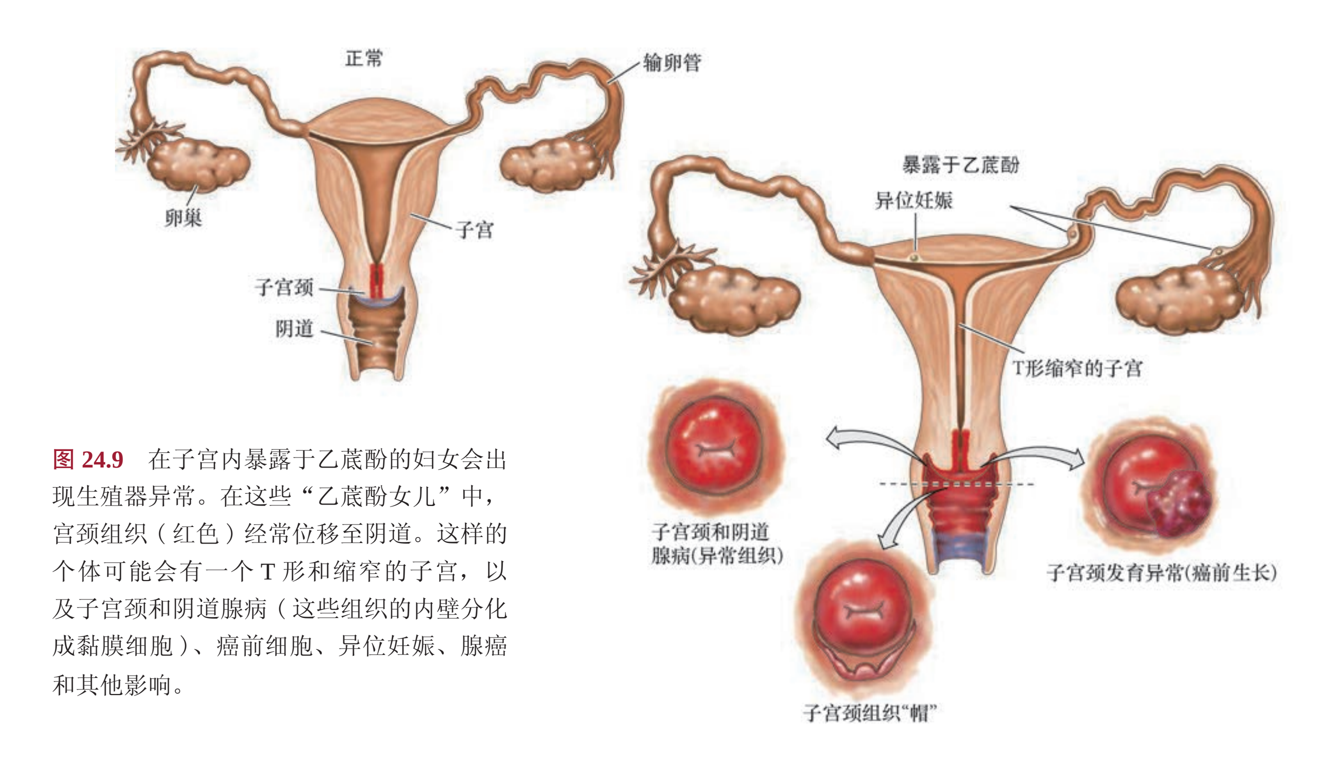


图 24.9　在子宫内暴露于乙底酚的妇女会出现生殖器异常。在这些"乙底酚女儿"中，宫颈组织（红色）经常位移至阴道。这样的个体可能会有一个 T 形和缩窄的子宫，以及子宫颈和阴道腺病（这些组织的内壁分化成黏膜细胞）、癌前细胞、异位妊娠、腺癌和其他影响。

乙底酚在雌性生殖道（苗勒氏管的衍生物，形成阴道的上部、子宫颈、子宫和输卵管；见图 6.1）引起细胞类型的变化而干扰性别和生殖腺发育。在很多情况下，乙底酚使输卵管和子宫边界（子宫输卵管接合处）缺失，导致不育、低生育率及高风险的其他生殖健康问题（Robboy et al. 1982；Newbold et al. 1983；Hoover et al. 2011）。

小鼠胚胎在子宫内暴露于乙底酚时产生类似于人类乙底酚综合征的症状，使得研究人员能够揭示这个环境激素的作用机制。在正常情况下，雌性生殖道区域受 *Hoxa* 基因的特化，它在整个苗勒氏管以嵌套的图式表达（图 24.10）。Ma 及其同事（1998）显示，乙底酚对雌性小鼠生殖道的影响可被解释为苗勒氏管中 *Hoxa10* 基因表达变化的结果。他们将乙底酚注射到孕鼠皮下，然后使胚胎发育至即将出生。比较来自乙底酚注射和未注射的孕鼠的胎儿显示，乙底酚完全抑制了 *Hoxa10* 基因在苗勒氏管的表达（图 24.11）。这个抑制作用在苗勒氏管的基质（间充质）中最为显著，而实验胚胎学家证明了这个位置是乙底酚的作用位点（Boutin and Cunha 1997）。乙底酚通过抑制 *Hoxa10* 基因而发挥作用已被 *Hoxa10* 基因敲除小鼠的表型进一步支持（Benson et al. 1996；Ma et al. 1998），在这种小鼠中，子宫的近端 1/4 部分被转变成输卵管，另外还有子宫输卵管接合处的异常。

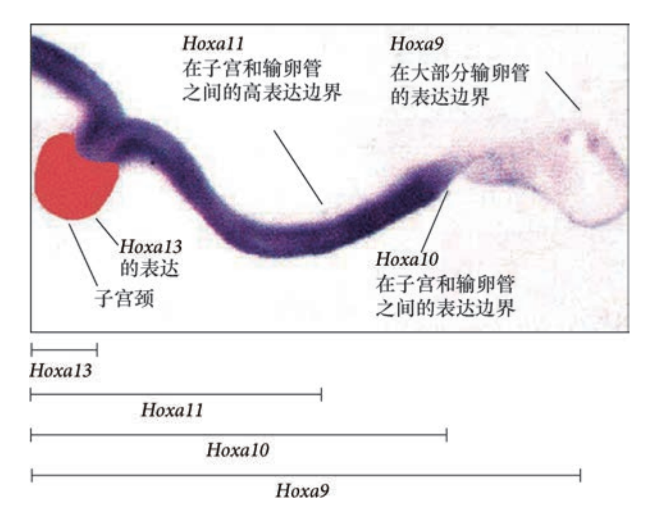


图 24.10 暴露于乙蔗酚对雌性生殖系统的影响。*Hoxa* 基因在第 16.5 天的正常雌性小鼠胚胎生殖系统的表达。*Hoxa13*（红色）和 *Hoxa10*（紫色）的整胚原位杂交。*Hoxa9* 表达在整个子宫和预定输卵管的大部分。*Hoxa10* 的表达在预定子宫和输卵管的过渡区之间呈现一个明显的前端边界。*Hoxa11* 与 *Hoxa10* 有相同的前端边界，但它的表达在接近子宫颈处减弱。*Hoxa13* 只在子宫颈和阴道上部表达（参考 Ma et al. 1998）。

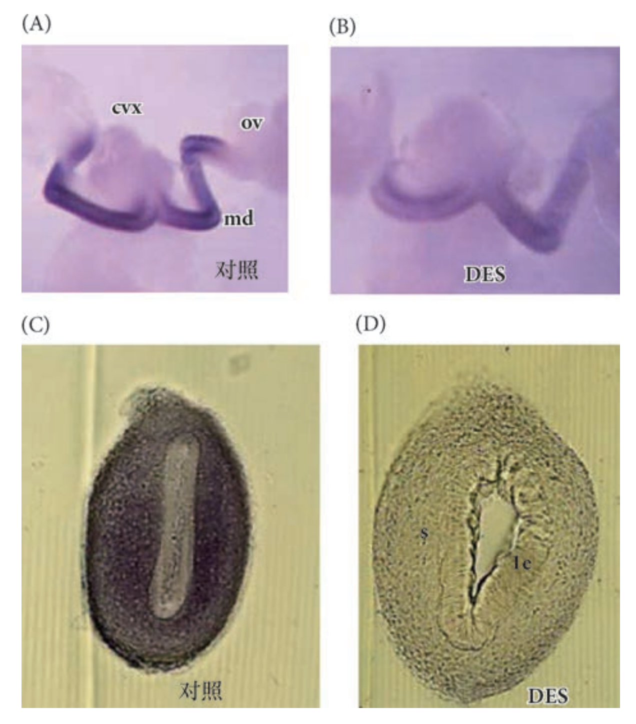


图 24.11 原位杂交显示乙蔗酚抑制 *Hoxa10* 的表达。(A) 第 16.5 天的正常雌性小鼠胚胎显示 *Hoxa10* 从子宫颈到子宫原基及大部分输卵管（cvx：子宫颈；md：苗勒氏管；ov：输卵管）的表达。(B) 在出生前暴露于乙蔗酚（DES）的小鼠中，这种表达受到严重抑制。(C) 出生后 5 天的对照小鼠（生殖组织仍在形成），通过子宫的一个切面显示 *Hoxa10* 表达在子宫间充质。(D) 出生后 5 天受高剂量乙蔗酚处理的雌性小鼠，*Hoxa10* 在间充质的表达几乎完全被抑制（le：子宫腔上皮；s：间质）（参考 Ma et al. 1998）。

同源异形基因的表达与子宫形态之间的一个环节是参与细胞增殖和防止凋亡的 Wnt 蛋白。同源异形域蛋白和 Wnt 蛋白都参与生殖组织的特化和形态发生（**图 24.12**）。暴露于乙蔗酚的雌性小鼠的生殖道与 *Wnt7a* 基因敲除小鼠的生殖道很相似。同源异形基因与 *Wnt* 基因相互作用以维持彼此的激活；但是，乙蔗酚通过激活雌激素受体而抑制 *Wnt7a* 基因的表达。这种抑制作用阻止同源异形基因表达的维持，也阻止另一个 *Wnt* 基因（*Wnt5a*）的激活，而 *Wnt5a* 编码一个对细胞增殖所需的蛋白质（Miller et al. 1998；Carta and Sassoon 2004）。

网络话题 24.5 **乙蔗酚是一种肥胖素** 一些环境激素，包括乙蔗酚，能增加脂肪细胞的形成和脂肪在这些细胞中的积累。

乙蔗酚对生育率的影响是一个复杂的国家政策、医学和发育生物学故事（Bell 1986；Palmlund 1996），雌激素化合物对内分泌的干扰正在继续。2007 年的教堂山共识（在美国环境保护署和国家环境卫生研究所资助的一个会议上达成）声明，塑料的一些主要成分是雌激素化合物，它们的剂量足以对人类性别的发育产生深远的影响（vom Saal et al. 2007）。这些化合物中最重要的成分是双酚 A。

24.4.2 双酚 A

在早期的激素研究中，类固醇激素非常难以分离，所以化学家制备了能行使相同功能的合成类似物。双酚 A 就是这样的类似物之一，它在 20 世纪 30 年代作为一种雌激素化合物被首次合成出来。后来，研究聚合物的化学家意识到双酚 A 也能被用于塑料产品，目前双酚 A 占据了全球化合物产量的前 50 位。

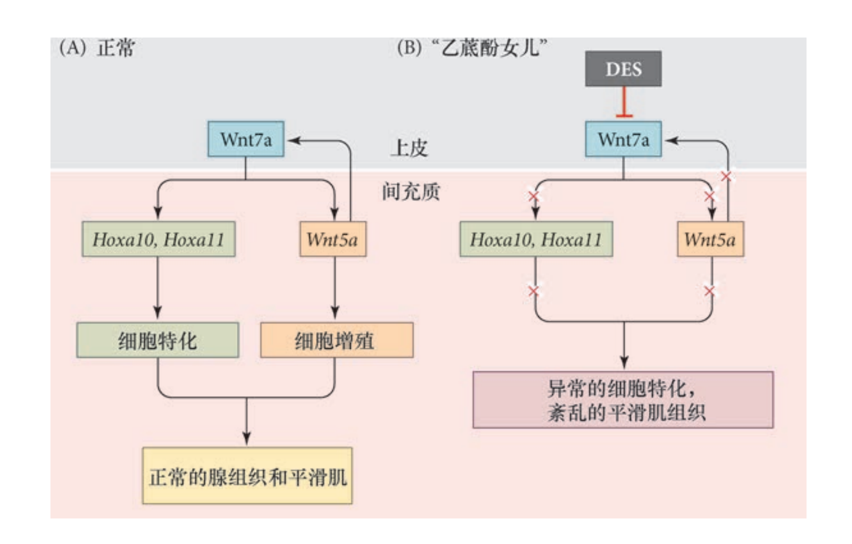


图 24.12　乙底酚对苗勒氏管形态发生的错误调节。(A) 在正常的形态发生过程中，来自上皮的 Wnt7a 激活和维持间充质的 *Hoxa10* 和 *Hoxa11* 基因。Wnt7a 也在间充质诱导 *Wnt5a* 的表达，Wnt5a 蛋白既维持 *Wnt7a* 的表达，也促进间充质细胞增殖。这些因子共同特化和指令子宫的形态发生。(B) 乙底酚 (DES) 通过雌激素受体阻断 *Wnt7a* 的表达，同源异形基因和 *Wnt5a* 基因在间充质中不能正常激活，导致雌性生殖器形态的根本性变化（参考 Kitajewsky and Sassoon 2000）。

在美国的四个公司每年几乎生产 20 亿磅的双酚 A(1 磅相当于 0.4536 kg)，用于大多数食品罐的树脂内壁，以及奶瓶的聚碳酸酯塑料、儿童玩具和水瓶。双酚 A 也被用于牙封闭剂和收款机收据（听起来很怪异）。改良型的四溴双酚 A 是纺织品的一个主要阻燃剂。

人与双酚 A 的接触主要来自食品容器的浸出 (von Goetz et al. 2010)。婴儿和幼儿通过聚碳酸酯奶瓶接触双酚 A；青少年和成人因为食用储存在含有双酚 A 树脂内壁的容器中的食品罐头而接触大部分双酚 A。从美国和日本的人群中获得的尿样有 95% 具有能够检测到的双酚 A 水平 (Calafat et al. 2005)，这就产生了一些关于双酚 A 引发生殖障碍、癌症和行为异常的公共健康问题。

网络话题 24.6　**双酚 A 和行为变化**　小鼠胎儿暴露于双酚 A 会引起行为的变化。人在出生前暴露于双酚 A 与攻击性和活动过度相关。

双酚 A 与生殖健康　双酚 A 不会永久地固定在塑料上 (Krishnan et al. 1993；vom Saal 2000；Howdeshell et al. 2003)，如果在室温下将水放置在一个旧的聚碳酸酯鼠笼中，一个星期后你就会在水中检测到 300 μg/L 的双酚 A。这是一个具有生物活性的剂量，这个浓度能逆转雄性蛙的性别、引起幼鼠子宫重量的变化。它也能导致染色体异常。当一个实验员误用碱性清洁剂清洗聚碳酸酯鼠笼时，双酚 A 就会从塑料上释放下来，饲养在这些笼子里的雌性小鼠有 40% 的卵母细胞显示出减数分裂异常（这种异常在正常情况下是 1.5%）。在可控的条件下给予孕鼠双酚 A 时，Hunt 和她的同事 (2003) 证明，短暂且低剂量的双酚 A 足以引起小鼠成熟卵母细胞的减数分裂异常。在灵长类动物中也能观察到这个作用。雌性的猴胎儿暴露于低剂量的双酚 A 时（相当于人血清中的水平）出现卵巢和减数分裂异常，与小鼠中的表型类似。这些胎儿具有多种卵巢功能异常，包括异常的减数分裂染色体行为和异常的滤泡形成 (Hunt et al. 2012)。

双酚 A 穿过人的胎盘，它积累的浓度能改变实验动物的发育 (Ikezuki et al. 2002；Schönfelder et al. 2002)。的确，在怀孕期间暴露于高水平双酚 A 的孕妇的流产率比接触较少双酚 A 的孕妇要高 83%(Lathi et al. 2014)。在模式生物中，双酚 A 在环境浓度下能引起胎儿的生殖腺异常、前列腺肥大、精子计数低，以及成体时的行为变化 (vom Saal et al. 1998，2005；Palanza et al. 2002；Kubo et al. 2003)。当 vom Saal 及其同事连续 7 天给予妊娠后期（相当于人的生殖器官正在发育的时期）的孕鼠十亿分之二浓度（即每克体重 2 ng）的双酚 A 时，雄性后代的前列腺增大近 30%(Wetherill 2002；Timms et al. 2005)。子宫内暴露于低剂量双酚 A 的雌性小鼠，在成体时生育率和生殖力下降 (Cabaton et al. 2007)。

除了上述对发育中卵的影响以外，这种较低的生育率可能是多种作用的结果。首先，双酚 A 和其他环境激素能阻止那些调节排卵的小鼠脑部位的性别特异性成熟 (Ruben et al. 2006；Gore et al. 2011)。其次，

在子宫内暴露于低剂量双酚 A（比美国政府认为是安全的剂量低 2000 倍）的雌性小鼠，在成体时子宫、阴道、乳腺组织和卵巢的结构发生变化，发情周期也受到影响（Howdeshell et al. 1999，2000；Markey et al. 2003）。最后，双酚 A 改变小鼠和胎盘中印记基因的配子特异性甲基化图式（Susiarjo et al. 2013）。

网络话题 24.7 **睾丸发育不全** 人类男性产生的精子量在过去的 50 年里似乎迅速下降。有证据显示，增强雌激素的环境激素是导致精子量降低的原因。

双酚 A 与癌症易感性 双酚 A 似乎使乳腺组织对雌激素更敏感，有研究认为在子宫内暴露于双酚 A 可能会使妇女在后来更容易患乳腺癌。在胎儿期暴露于双酚 A 使 1/3 的大鼠在后来的生命中接触环境浓度的双酚 A 时在乳腺中出现早期癌症（Murray et al. 2006）。没有任何对照大鼠出现这种癌症。此外，在孕期每天摄入少至 25 ng/kg 体重的双酚 A，然后在青春期给予"次致癌剂量"的化学致癌剂，这样就仅在那些暴露于双酚 A 的动物中导致了肿瘤的形成（Durando et al. 2006）。的确，在暴露于双酚 A 的小鼠中，乳腺发育的变化在胎儿期就已经显示出来，在青春期，乳腺形成更多的末端芽并且对雌激素更为敏感，这就使小鼠在成体时更易患乳腺癌（Muñoz-de-Toro et al. 2005）。而且，使雌性的猴胎儿暴露于低剂量的双酚 A（相当于人血清中的浓度）产生类似于小鼠中的乳腺发育变化（图 24.13）。在上述实验中，双酚 A 被证明是使小鼠在后来遇到致癌剂时更容易发生肿瘤的因子。但是，用不同品系的大鼠进行的一些新的研究证明，当大鼠胚胎暴露于相对低剂量的双酚 A 时（美国环境保护署认为是安全的剂量），它们不需要在后来的生命中再次接触双酚 A 也能产生明显的出生后肿瘤。Acevedo 及其同事（2013）得出结论，"双酚 A 可以作为一个彻底的乳腺致癌剂"。

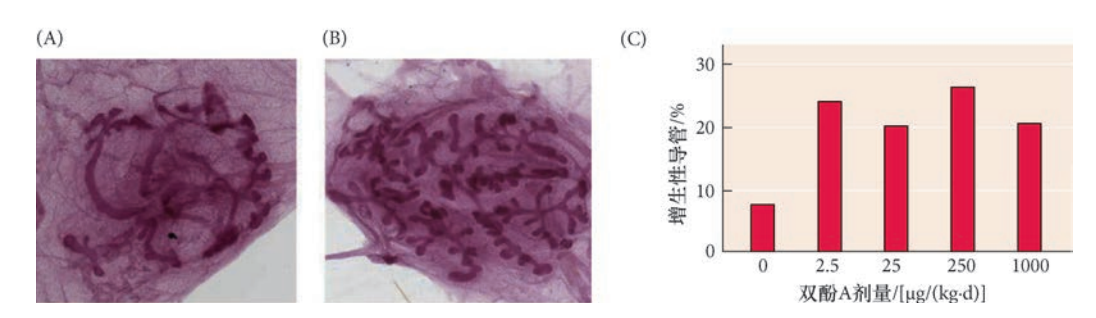


图 24.13 双酚 A 诱导乳腺发育变化。（A，B）新生雌性猕猴乳腺的整封染色。（A）对照乳腺。（B）出生前暴露于双酚 A 的胎儿的乳腺。暴露于双酚 A 的组织有两倍多的末端芽（初始分支）。（C）在暴露于双酚 A 的小鼠中，乳腺导管内增生（一种癌变状态）的比例在出生后第 50 天显著升高（A 图和 B 图来自 Tharp et al. 2012；C 图来自 Murray et al. 2007）。

塑料工业声称双酚 A 是安全的，并且出生前暴露于双酚 A 的啮齿动物没有显示发育异常（见 Cagen et al. 1999；Lamb 2002）。但是，针对该研究的评论指出这些实验并不严谨（正对照没有显示出预期的效果），并且认为双酚 A 是目前已知最危险的化合物之一，政府应该考虑禁止它被用于包装人和动物可能饮用的液体（vom Saal and Hughes 2005；Chapel Hill Consensus 2007；Myers et al. 2009；Gioiosa et al. 2015）。

的确，针对一项研究（Lernath et al. 2008）显示双酚 A 在低于美国环境保护署认为是安全的浓度时也能干扰猴脑的发育，美国化学委员会回应说"没有直接的证据说明接触双酚 A 有害地影响人的生殖和发育"（见 Layton 2008；Gilbert and Epel 2015）。这个圈套在于"直接证据"意味着用人的胎儿去试验已知浓度的药物，这在道德上不可能做到。在没有政府法规的情况下，乐基因和沃尔玛公司已经自动停产和销售含有双酚 A 的瓶子。

科学家讲座 24.5 Frederick vom Saal 博士讨论双酚 A 的内分泌干扰作用及管理这种化合物的问题。

24.4.3　阿特拉津：通过激素合成的内分泌干扰

芳香酶能将睾酮转变成雌激素，而雌激素在很多脊椎动物中诱导雌性的性别决定。例如，在海龟，雌激素下调睾丸形成基因并上调那些形成卵巢的基因（Valenzuela et al. 2013；Bieser and Wibbels 2014）。多氯联苯和双酚 A 也能逆转饲养在“雄性”温度下的海龟的性别（Jandegian et al. 2015）。这个以及其他研究（见 Bergeron et al. 1994，1999）对保护濒危动物（包括海龟、两栖类和鳄鱼）的环境保护工作有重要意义，因为激素能在这些动物中影响初级性别决定的变化。

某些两栖类的生存可能受到除草剂的威胁，这些除草剂以睾酮为代价促进雌激素的水平，严重降低雄性动物的数量、功能和生育率。其中一个例子就是极低剂量的除草剂阿特拉津能产生雌雄同体和失去雄性特征的蛙。阿特拉津是在全球使用最广泛的除草剂之一，并且污染了整个美国的小溪和池塘（**图 24.14**）。阿特拉津诱导芳香酶，而芳香酶将睾酮转变成雌激素。Hay 及其同事（2002a）发现，使蝌蚪暴露于低至 0.1ppb 浓度的阿特拉津就能在雄蛙中引起生殖腺和其他性别异常。在 0.1ppb 或更高的浓度下，很多雄性蝌蚪除精巢之外还发育出卵巢。在 1ppb 浓度时，声囊（雄蛙必须用这个囊来传递信号和找到潜在的配偶）不能正常发育。在更接近自然条件的室外环境中进行的类似实验（Langlois et al. 2010）也显示雄蛙（美洲豹蛙）被阿特拉津转变成雌蛙。

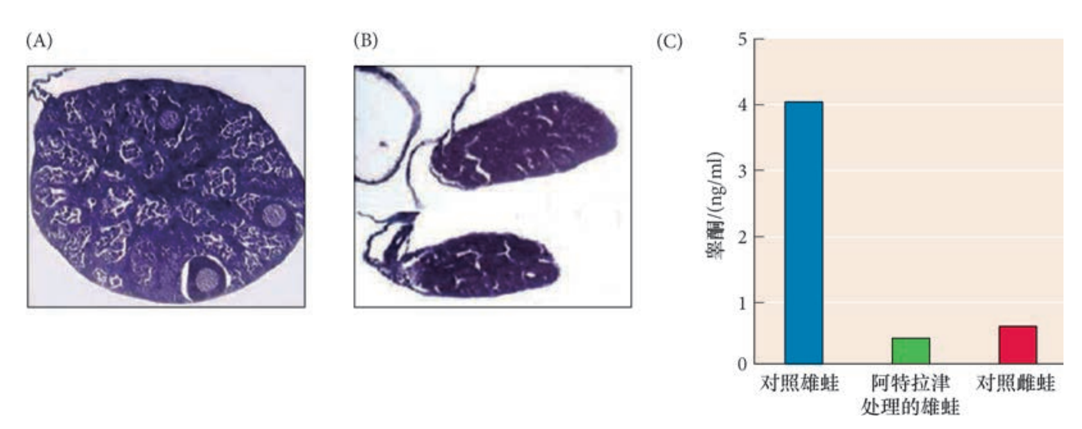


图 24.14　低剂量的阿特拉津使蛙去雄性化。（A）生长在阿特拉津的浓度为 0.5ppb 的自然环境中的一个蛙的精巢。这个精巢有三个小叶，既能发育出精子也能产生卵子。（B）生长在阿特拉津的浓度为 0.8ppb 的自然环境中的一个蛙的两个精巢。这些器官显示严重的睾丸发育不良，在这个地区有 28% 的蛙都表现出这种异常特征。（C）25ppb 浓度的阿特拉津对性成熟的雄性非洲爪蛙血浆中睾酮水平的影响。对照雄性的睾酮水平大约是对照雌性的 10 倍；阿特拉津处理后雄蛙的血浆睾酮水平相当于或低于对照雌性的睾酮水平（A 图和 B 图参考 Hayes et al. 2003，照片由 T. Hayes 提供；C 图参考 Hayes et al. 2002a）。

在实验室进行的实验中，当性成熟的成体雄蛙被暴露于 25ppb 浓度的阿特拉津时，睾酮水平降低了 90%，与对照雌蛙中的水平相当（Hayes et al. 2002a）。这是一个生态浓度，因为在美国的饮用水中阿特拉津的允许量是 3ppb 浓度，而在美国中西部的一些小溪中阿特拉津的含量能达到 224ppb 浓度（Battaglin et al. 2000；Barbash et al. 2001）。即便是低于 2.5ppb 浓度时，雄蛙的性行为也严重下降。交配行为变得相对罕见，并且有 10% 的雄蛙变成能产卵的雌蛙（Hayes et al. 2010）。

在一个实地研究中，Hayes 和他的同事在美国中部的 8 个地区采集了豹蛙和水样（Hayes et al. 2002b，2003）。他们将水样送到两个独立的实验室以检测阿特拉津的水平，并且他们也将蛙的样品编号，使解剖生殖腺的实验员无法知道动物来自哪个地区。结果显示，除了一个地区以外，其他所有地区的水样都含有阿特拉津，而正是水样中不含阿特拉津那个地区的蛙没有出现生殖腺异常。即便是阿特拉津的浓度低至 0.1ppb，豹蛙的睾丸也发育不良（睾丸生长受阻）或转变成卵巢。在很多样品中，精巢中出现

卵母细胞（见图 24.14）。

阿特拉津使雄性生殖腺雌性化的能力见于所有脊椎动物。的确，在每天都接触阿特拉津的男性中，出现精子计数少、精液质量差和生育率下降（Swan et al. 2003；Hayes et al. 2011）。对阿特拉津在野生动物和人类中干扰性激素的担忧使法国、德国、意大利、挪威、瑞典和瑞士已经禁止使用这个除草剂（Dalton 2002）。但是，美国的药厂为了将阿特拉津继续保留在美国市场却成功地进行了游说（见 Blumenstyk 2003；Aviv 2014）。

科学家讲座 24.6 Tyrone Hayes 博士描述他的研究，证明一种主要的除草剂能使雄蛙变成雌蛙，并且与人类的生殖器异常和癌症相关。

24.4.4 液压破碎法：内分泌干扰的潜在新来源

美国政府的条例不涉及用于从页岩获取甲烷（天然气）的水力压裂（"液压破碎"）过程所释放到环境中的化合物。这个过程共会用到 632 个化学物质，其中有 25% 已知能引发肿瘤，有大于 35% 已知能影响内分泌系统（Colburn et al. 2011）。据估计，大约一半用于液压破碎的液体回到了地表面（DOE 2009）。取自液压破碎地点的积水和地下水都含有雌激素化合物、抗雌激素化合物和抗雄激素（抗睾酮）化合物（Kassotis et al. 2014；Webb et al. 2014）。水中的一些化合物能激活雌激素应答基因的增强子，而其他化合物能抑制睾酮应答基因的激活。其中有一个水样检测点在钻孔和液压破碎前曾是一个牧场，但牧场的经营已经中断，因为动物不能继续繁殖后代。最近在科罗拉多农村关于液压破碎的一项研究报道，水力压裂井附近的家庭出生的儿童表现出显著升高的先天性心脏疾病发病率（McKenzie et al. 2014）。

科学家讲座 24.7 Susan Nagel 博士讨论她鉴定水力压裂（液压破碎）活动所产生的水中含有内分泌干扰性化学物质。

24.5 发育紊乱的跨代遗传

你砍一辈子柴也不会使你后代的肱二头肌发达，你在一次事故中失去了一个胳膊也不会导致你后代在出生时无肢。这就是为什么环境因素（在这两种情况下是运动和创伤）不会引起 DNA 的突变。要传递到后代，突变不能只发生在体细胞，它们必须发生在生殖细胞系。因此，由于过度暴露于阳光而在皮肤细胞中产生的基因突变是不能传递的。但是，现代发育遗传学中最令人惊讶的结果之一就是发现了一些环境诱导的表型能一代一代地传递下去。DNA 甲基化似乎是一种能够规避突变的限制而将获得的性状传递下去的机制。

某些因素能在整个身体引起相同的 DNA 甲基化改变，这些甲基化的变化可以通过精子和卵子传递。Jablonka 和 Raz（2009）报道了很多例子，其中不同的"表观等位基因"（即含有不同甲基化图式的 DNA）能稳定地从一代传递到另一代。在哺乳动物，表观等位基因遗传在研究环境激素乙烯菌核利时首次被报道，乙烯菌核利是一种广泛应用于葡萄果树的杀真菌剂。如果在特定的妊娠时期注射到怀孕的大鼠，乙烯菌核利能在雄性后代中引起精巢发育不良。精巢最初能正常形成，但当雄鼠逐渐长大时，精巢开始退化并停止产生精子。更有意思的是，具有这种诱导性精巢发育不良（通常是用人工方法）的小鼠所生的子代雄鼠也出现精巢发育不良。并且它们的后代以及后代的后代也是如此（Anway et al. 2005, 2006；Guerrero-Bosagna et al. 2010）。因此，将乙烯菌核利给予一个孕鼠，其孙代雄鼠也会受到影响（图 **24.15**）。

在大鼠中，这种遗传的机制似乎是 DNA 甲基化。精巢支持细胞中 100 多个基因的启动子（见第 6 章）的甲基化图式被乙烯菌核利改变，而且这种改变的启动子甲基化能至少连续三代存在于精子的 DNA（Guerrero-Bosagna et al. 2010；Stouder and Paolini-Giacobino 2010）。这些基因编码的产物对细胞增殖，以及 G 蛋白、离子通道和受体的功能是必需的。值得注意的是，第三代（F_3）已经不再直接暴露于乙烯菌核利。胎儿处在乙烯菌核利注射的母体内，并且这个胎儿具有自身的生殖细胞（产生第二代）。然而，即便是从未暴露于乙烯菌核利的 F_3 代和 F_4 代的子代，它们的表型也因为它们的曾祖母最初受到乙烯菌核利的注射而被改变。

类似的研究显示，其他环境激素，如乙底酚、双酚 A 和多氯联苯，也有跨代传递的作用（Skinner et al. 2010；Walker and Gore 2011）。的确，双酚 A 在小鼠中诱导的行为变化至少能持续四代（Wolstenhome et al. 2012）。这种遗传对公共健康带来的影响目前才刚刚开始被探索。

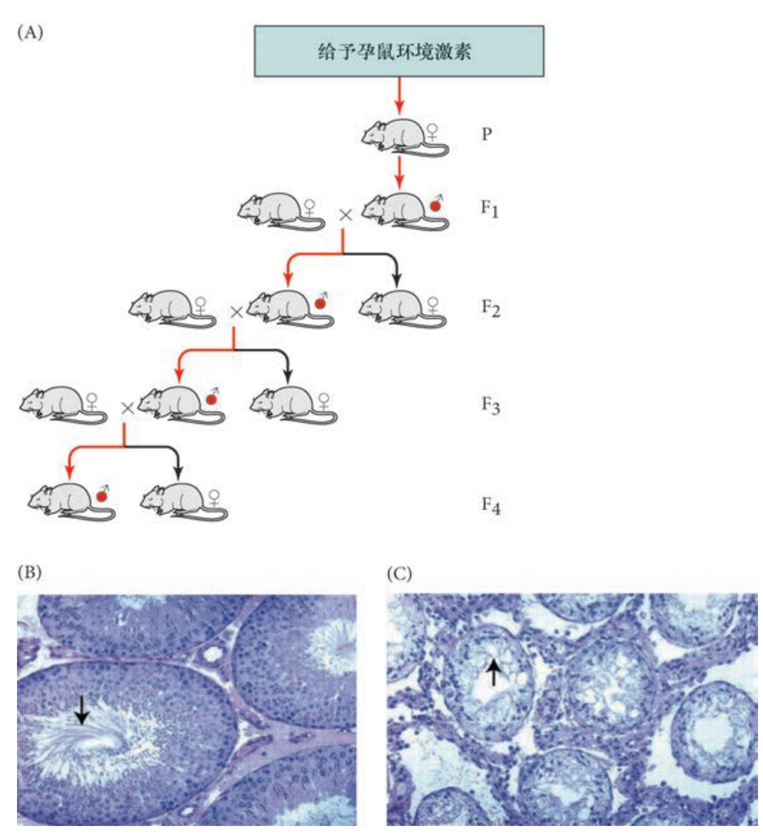


图 24.15　内分泌干扰的表观遗传传递。（A）精巢发育不良综合征（红圈）的传递通过四代小鼠予以显示。只有 F_1 代在出生前接触到环境激素。（B，C）生精小管的横切面分别来自对照雄鼠（B）和祖父出生自乙烯菌核利注射的母鼠的雄鼠（C）。（B）图中的箭显示正常精子的尾部。（C）图中的箭显示乙烯菌核利注射的雌鼠的后代雄鼠具有更小的生精小管，其中缺少生殖细胞；这只鼠在正常情况下没有生育能力（参考 Anway et al. 2005；Anway and Skinner 2006，图由 M. K. Skinner 提供）。


科学家讲座 24.8　Michael Skinner 博士讨论他关于跨代表观遗传疾病的研究。

24.6　癌症是一种发育的疾病

因为已知环境激素能引发肿瘤及发育异常，癌症也越来越被作为一种发育的疾病而进行研究。癌症是一种发育的疾病这个观点已经在很多年前就受到了认可（见 Stevens 1953；Auerbach 1961；Pierce et al. 1978）。癌变不仅仅是产生肿瘤的细胞中的遗传变化（见 Hanahan and Weinberg 2000）；更确切地说，它可被视为正常分化和形态发生重要过程的偏差。的确，在斑马鱼中关于黑素瘤的新近研究（Kaufman 2016）显示，当黑素细胞（色素细胞）携带两种在很多癌细胞中发现的突变时，它们就会形成色素结节，而不形成肿瘤。黑色素瘤（黑素细胞的癌性生长）只有在色素细胞也表达神经嵴前体细胞（在胚胎中能产生黑素细胞）的标志物时才能发生。

以前曾认为癌变和肿瘤转移是由于获得突变而具有"自主性"的细胞的增殖而造成的，因此将癌症定义为能使一个细胞变得独立于其环境的细胞内机制。但事实证明，这只能对癌变做出部分解释。我们现在知道，最初的癌细胞能改变它们的环境，使其变成促进癌症的微环境。癌症在一些逐渐发展的条件下被不断重塑，这些条件取决于初始癌细胞与它们的组织环境的支持细胞之间的相互作用。细胞之间相

互作用的逐渐变化导致异常的组织构造，并有可能产生癌细胞的微环境。的确，癌细胞似乎通过再现一些发育过程而发展，包括形成一个赖以增殖的微环境。所以，癌变和先天异常可被视为组织结构、分化和细胞之间信息传递的疾病。我们将会看到，它们经常是相同途径的缺陷所引起的。有很多从发育的角度去看待恶性肿瘤和肿瘤转移的理由，在这里我们从四个方面予以讨论：

1. 肿瘤形成的背景依赖性；
2. 细胞之间信息传递的缺陷是癌症的引发因素；
3. 癌症干细胞；
4. 癌细胞的表观遗传重编程。

背景依赖性肿瘤 很多肿瘤细胞具有正常的基因组，这些肿瘤是否会变成恶性细胞取决于它们的环境（Pierce et al. 1974；Mack et al. 2014）。一个最显著的例子是**畸胎癌**（**teratocarcinoma**），它属于一种生殖细胞或干细胞肿瘤（Illmensee and Mintz 1976；Stewart and Mintz 1981）。畸胎癌是细胞的恶性生长，能使生物体致死。这些细胞很像哺乳动物胚泡的内细胞团。但是，如果将一个畸胎癌细胞置入小鼠胚泡的内细胞团，它将整合到胚泡，失去恶性，进行正常分裂。它的子代细胞能变成众多胚胎器官一部分。如果其子代细胞形成生殖系的一部分，这个肿瘤细胞形成的精子或卵子就会将肿瘤基因组传递到下一代。因此，细胞变成肿瘤还是变成胚胎的一部分取决于其周围的细胞。

有可能是干细胞环境通过旁分泌途径抑制物的分泌而阻止肿瘤形成。例如，很多肿瘤细胞（包括黑色素瘤）分泌旁分泌因子 Nodal。这有助于肿瘤细胞增殖并能为它们提供血管。如果被放置到胚胎干细胞（分泌 Nodal 的抑制物）的环境中，恶性黑色素瘤（来自神经嵴细胞）就会变成正常的色素细胞（Hendrix et al. 2007；Postovit et al. 2008）。最为显著的是，如果被移植到早期的鸡胚胎，这样的恶性黑色素瘤细胞将会下调 Nodal 的表达，并像正常细胞一样沿神经嵴细胞途径进行迁移（**图 24.16**；Kasemeier-Kulesa et al. 2008）。

细胞之间信息传递的缺陷 在很多情况下，组织之间的相互作用对阻止细胞进行分裂是必需的，这说明细胞之间信息的错误传递是引起癌症的前提。因此，组织构造的缺陷能导致肿瘤发生，并且一个细胞的周围环境对恶性的决定有关键作用（Sonnenschein and Soto 1999，2000；Bissell et al. 2002）。一些研究显示，改变组织的结构能导致肿瘤发生，而恢复适宜的组织环境能抑制这些肿瘤（Coleman et al. 1997；Weaver et al. 1997；Booth et al. 2010）。特别是，尽管 80% 的人类肿瘤来自上皮细胞，但这些细胞似乎并不总是引起癌变的位点。相反，上皮细胞癌经常是由于环围和维持上皮的间充质性基质细胞的异常而导致的。Maffini 及其同事（2004）将大鼠乳腺中正常的和致癌剂处理的上皮及间充质重组后发现，乳腺上皮细胞的肿瘤性生长不是发生在致癌剂处理的上皮，而是仅发生在与致癌剂处理的乳腺间充质组合的上皮。因此，致癌剂使乳腺的间充质性基质发生异常，而受到处理的间充质性基质显然不再为上皮细胞提供形成正常结构的指令。然后，这些异常结构表现出失控的细胞增殖（**图 24.17**）。这些发现使人们对间质细胞在邻近上皮中调节癌症起始的方式有了新的认识（Wagner et al. 2016）。

旁分泌途径的缺陷 这个问题将我们带至另一个概念：干扰细胞之间的旁分泌信号能引起肿瘤发生。Rubin 和 de Sauvage（2006）认为“多种关键的信号途径，如 Hedgehog、Notch、Wnt 和骨形态发生蛋白 / 转化生长因子 -β/ 激活蛋白，都参与大多数至关重要的正常胚胎发育过程。目前也越来越清楚，这些途径通过散发性突变或其他机制在成体组织中被重新激活时对肿瘤发生有关键的作用”。我们在前面讨论的黑色素瘤细胞分泌 Nodal 蛋白就是这种情况。这些发现证明了上述间质组织的重要性。例如，很多肿瘤分泌旁分泌因子 Hedgehog（Shh），这个因子通过两种方式发挥作用。第一，它可以通过自分泌的方式刺激分泌它的细胞进行生长。自分泌的 Shh 通常对维持小脑的颗粒神经元祖细胞和造血干细胞是必需的；Shh 途径的抑制物能逆转某些髓母细胞瘤和白血病，它们分别是颗粒神经元祖细胞和造血干细胞的肿瘤（**图 24.18A，B**；Rubin and de Sauvage et al. 2006；Zhao et al. 2009）。据报道，小细胞肺癌、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌和肝癌需要 Shh 的自分泌。第二，在某些情况下，肿瘤细胞产生的 Shh 可能并

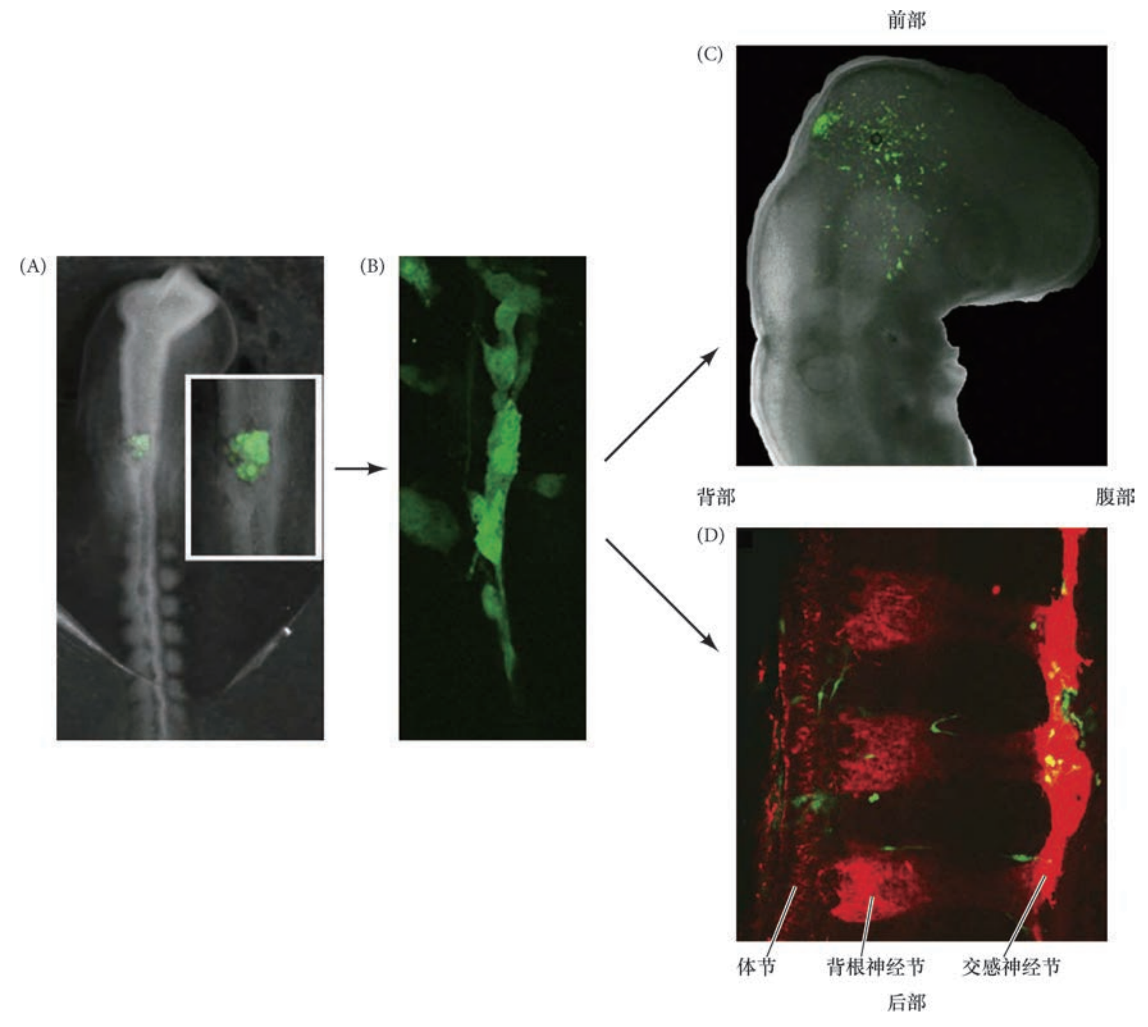


图 24.16 人的侵袭性黑色素瘤细胞被注射到第 2 天的鸡胚胎背部神经管时（A），它们形成正常的迁移链（B），并沿神经嵴迁移途径整合到面部软骨（C）和交感神经节（D）。它们在这些位置形成正常的黑素细胞（来自 Kasemeier-Kulesa et al. 2008）。

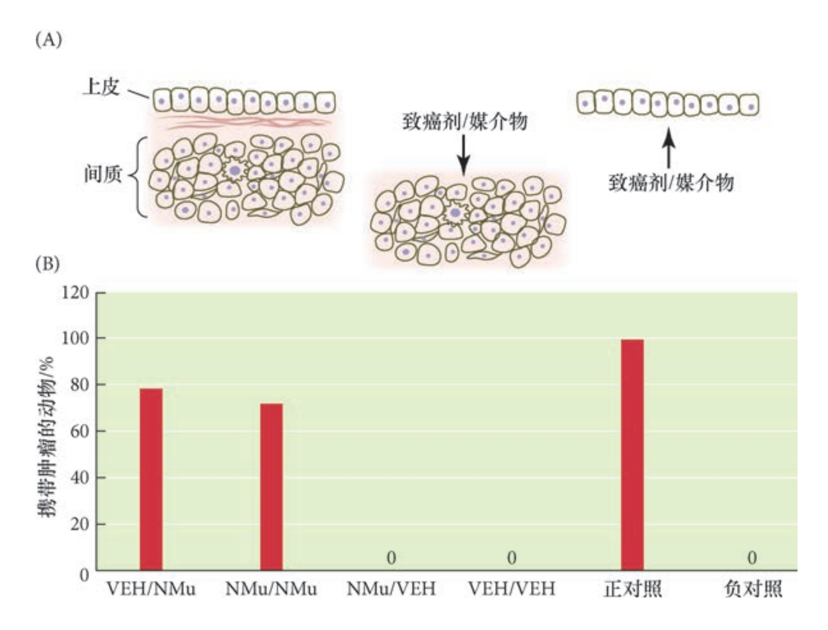


图 24.17 间质调节上皮性（实质）肿瘤产生的证据。(A) 实验步骤的图示。乳腺组织既有上皮也有间质（间充质细胞）。这两组细胞可以被分离和重组。使用一种癌形成物质（致癌剂）处理上皮而不处理间质，或处理间质而不处理上皮。然后将它们重新组合，使上皮（而不是间质）接触致癌物质、使间质（而不是上皮）接触致癌物质、使两者都接触致癌物质、使两者都不接触致癌物质。(B) 使用致癌诱变剂甲基亚硝基脲（NMu）或仅使用对照媒介物（VEH）处理间质或上皮，并植回大鼠乳腺后的结果。在水平轴上，上分母代表上皮，下分母代表间质。只有间质受诱变剂处理的动物产生了肿瘤，不论上皮是否受到诱变剂处理。诱变剂处理的整体动物产生肿瘤（正对照），而接受对照溶液（负对照）的大鼠没有产生肿瘤（参考 Maffini et al. 2004）。

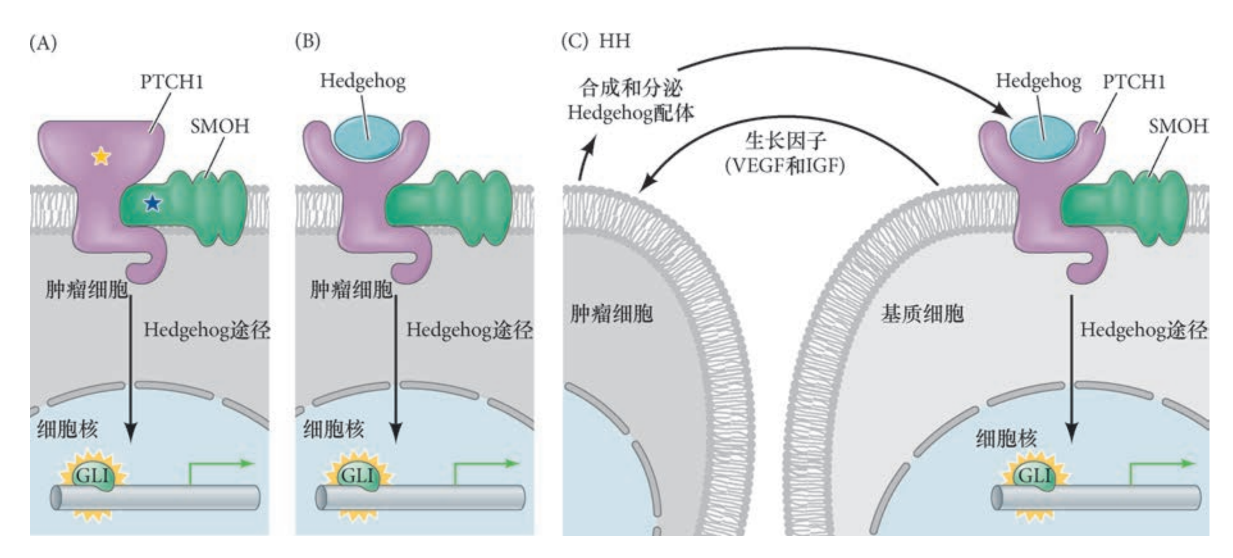


图 24.18 Shh（HH）信号途径（见图 4.30）导致癌症的机制。（A）如果 Shh 作为一个促分裂原（它对小脑颗粒神经元祖细胞和造血干细胞确是如此），Hedgehog 的受体 Patched（PTCH1；黄色星号）的缺失功能突变或 Patched 的抑制物 Smoothened（SMOH；蓝色星号）的获得功能突变激活 Hedgehog 途径，即便是没有 Shh 或另一个 Hedgehog 蛋白。（B）在自分泌模型中，肿瘤细胞既合成也应答 Hedgehog 配体。（C）在旁分泌模型中，肿瘤细胞合成并分泌 Hedgehog 配体，周围的基质细胞接收 Hedgehog 蛋白。这些基质细胞通过产生一些支持肿瘤生长或存活的生长因子，如血管内皮生长因子（VEGF）或胰岛素样生长因子（IGF），应答 Hedgehog 信号（参考 Rubin and de Sauvage 2006）。

不作用于肿瘤细胞本身，而是影响基质细胞，使基质细胞产生一些支持肿瘤细胞的因子，如胰岛素样生长因子（图 24.18C）。如果 Shh 途径被阻断，肿瘤就会退化（Yauch et al. 2008，2009；Tian et al. 2009）。环巴胺是一个阻断 Shh 信号的致畸因子，能阻止这些肿瘤的生长（Berman et al. 2002，2003；Thayer et al. 2003；Song et al. 2011）。

因此，通过阻断胚胎发育中的一个途径而导致畸形发生的相同化学物质可被用来阻断癌症干细胞的激活。例如，环巴胺和 Shh 途径的其他抑制物能引起胚胎畸形，但它们似乎可被用于阻止髓母细胞瘤干细胞的产生和增殖（Berman et al. 2002；De Smale et al. 2010）。即使是典型的致畸因子沙利度胺，也正在被“恢复名誉”而用于癌症治疗。

癌干细胞假说 将癌症视为发育疾病的另一个角度是肿瘤的特性由于有类似于成体干细胞的细胞群体而可能出现。癌症具有干细胞这个思路是将癌症研究与发育生物学相关联的纽带之一。Pierce 和 Johnson（1971）认为，“恶性组织，与正常组织一样，通过干细胞的增殖和分化使自身得以维持”。同年，Pierce 和 Wallace（1971）在大鼠的上皮癌中证明了干细胞的存在。谱系示踪显示肠腺瘤干细胞（肠癌的前体）呈现阳性的富含亮氨酸重复基序的 G 蛋白偶联受体 -5（LGR5），并且像正常的肠干细胞那样，与帕内特细胞（见第 5 章）具有相同的关系，这进一步突出了正常干细胞和癌干细胞之间的相似性（Schepers et al. 2013）。

在众多的癌症中，包括成胶质细胞瘤（最常见的脑瘤）、前列腺癌、黑色素瘤和骨髓性白血病，一个快速分裂的癌干细胞群体产生更多的癌干细胞和相对缓慢分裂的分化细胞（Lapidot et al. 1994；Chen et al. 2012；Driessens et al. 2012；Schepers et al. 2012）。这些癌干细胞能自我更新，以及产生肿瘤的非干细胞群体。的确，肿瘤细胞从一个动物被移植到另一个动物时，只有癌干细胞能产生新的异质性肿瘤（Gupta et al. 2009；Singh and Settleman 2010）。癌干细胞的来源还不清楚，并且不同的肿瘤类型会有不同的来源。多数研究人员认为癌干细胞或者来自一个正常的干细胞，或者来自一个祖细胞（过渡性扩增细胞）。

肿瘤在形成时，癌干细胞产生更多的癌干细胞，以及大量更为分化的肿瘤细胞。更显著的是，恶性的成胶质细胞瘤似乎不仅产生未成熟的神经胶质样细胞（成神经胶质细胞），它们也形成血管内皮细

胞。以这种方式，肿瘤就能建立自身的血管系统（El Hallani et al. 2010；Ricci-Vitiani et al. 2010；Wang et al. 2010）。

24.6.1　癌症的发育疗法

与其说癌症是一个细胞变坏的结果，不如说是细胞之间关系出现错误的结果。癌症经常是发育信号的疾病，并且多种类型的癌细胞被植回到表达旁分泌因子或旁分泌因子抑制物的胚胎区域时能恢复正常。癌症的这种发育视角使我们能探索治疗癌症的新途径。有一种这样的疗法，称为**分化疗法**（**differentiation therapy**），在 30 多年以前就被认为有治疗癌症的潜力，只不过在当时还无法实现。

在 1978 年，Pierce 及其同事注意到癌细胞在很多方面都是胚胎细胞的复原，他们推测，如果使癌细胞分化，那么它们就能被恢复正常。同样在 1978 年，Sachs 发现，使白血病细胞分化而不是增殖能控制某些白血病。其中一种白血病——急性早幼粒细胞白血病，是由于体细胞重组而产生一个“新”的转录因子所导致的，其亚基之一是视黄酸受体。这个受体即便是在没有视黄酸的情况下也能结合 DNA 的视黄酸结合位点，抑制视黄酸应答基因并产生更致密的染色质结构（Nowak et al. 2009）。这个“新”转录因子在中性粒祖细胞的表达能使细胞向恶性转变（Miller et al. 1992；Grignani et al. 1998）。用全反式视黄酸治疗急性早幼粒细胞白血病能使 90% 以上的患者病情缓解，因为额外的视黄酸能使白血病细胞分化成正常的中性粒细胞（Hansen et al. 2000；Fontana and Rishi 2002）。

最近，人们检测了微 RNA 在分化疗法中的作用。很多肿瘤都有特定的微 RNA 被下调（Berdasco 2009；Mishra and Merlino 2009）。这些下调的微 RNA 通常是一些肿瘤抑制基因，能阻止 DNA 甲基化的改变。Taulli 及其同事（2009）证明，一个微 RNA——miRNA-206，在正常情况下表达在骨骼肌细胞，但在肌细胞肿瘤中呈现下调。在肌肉瘤细胞中添加 miRNA-206 能恢复它们的分化表型并能阻止癌症的形成。这说明有一种通过促使细胞分化而阻止癌症的组织特异性机制（图 24.19）。

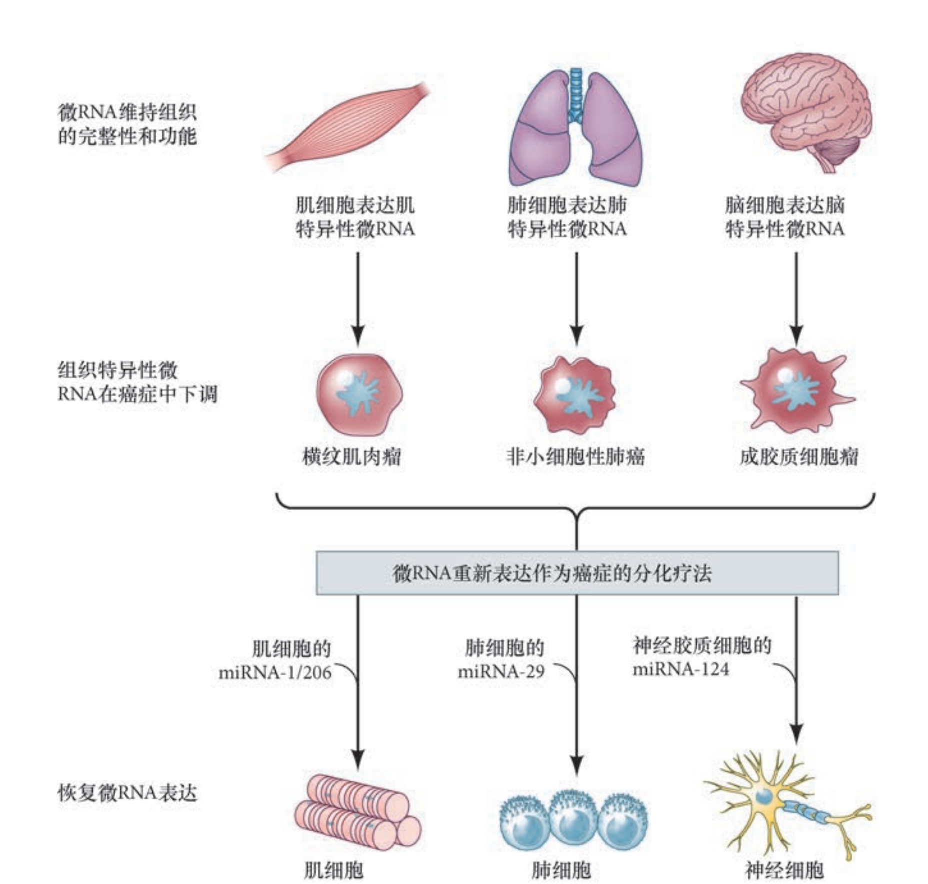


图 24.19　添加微 RNA 作为分化疗法的一个可能手段。很多细胞类型（例如肌细胞、肺细胞和脑细胞）在形成肿瘤时都进行去分化。这种去分化伴随着维持分化细胞的 DNA 甲基化图式的特定微 RNA 的丢失。为肿瘤细胞恢复这些微 RNA 能重新建立分化的 DNA 甲基化图式（参考 Mishra and Merlino 2009）。

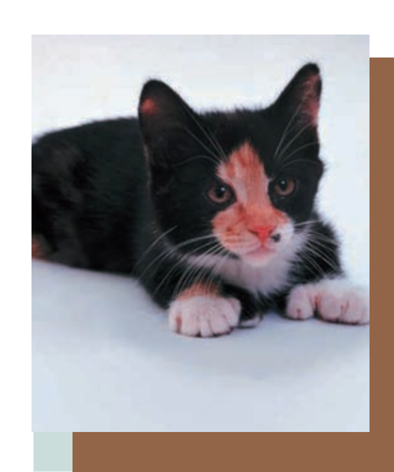
结束语

发育生物学对现代医学越来越重要。预防医学、公共健康和保护生物学需要我们了解更多关于工业性化工品和药物损伤胚胎的机制。具备有效且廉价地检测化合物的潜在危害的能力至关重要。发育生物学也提供了认识癌变的新方法，以及预防和治愈癌症的新手段。最后，发育生物学正在为我们解释突变的基因和染色体非整倍性如何导致异常的表型。

我们要清楚地意识到，我们投入到环境中的物质、我们涂在皮肤上的美容品，以及我们食用和饮用的物质能接触到发育中的胚胎、胎儿和幼体。发育中的生物体具有不同的生理功能，因为它们是在构建，而不仅仅是维持它们的表型，一些对成体似乎无害的化学物质可能会干扰胚胎的发育。我们需要整个社会来养育一个胚胎。

下一步的研究

目前研究的一个重要方面是关于环境激素对行为、免疫系统和癌症的影响。出生前暴露于致癌剂和环境激素是否会使我们在生命后期易患癌症、哮喘、肥胖症或认知障碍，对这些问题的了解至关重要。一些环境激素似乎影响儿童的免疫系统，使接种疫苗的预期免疫作用失效。这样的环境化学物质（或其他因素，如压力）能否影响染色质而导致表型的跨代遗传，这也是一个需要了解的关键问题。





开篇图的思考

发育缺陷是遗传或环境的原因。这里显示的多指畸形猫是遗传的原因，涉及 *sonic hedgehog* 基因的增强子（见第 19 章）。多指（趾）畸形在哺乳动物，包括人，并非罕见。罗伯特•钱伯斯（Robert Chambers），一个早期的进化学家，是一个完全的多指（趾）畸形，有 12 个脚趾和 12 个手指。在发育中出现这种相对轻微的“差错”能为群体增加多样性；你也许可以想象出多指（趾）可能会很有益处的环境。有可能是很多进化适应都起始于先天异常（图为 Jane Burton/Dorling Kindersley/Corbis 版权所有）。

24 要点总结

健康和疾病中的发育

1. 遗传错误和环境影响引起的发育异常使得所有人类胚胎只有相对较少的比例能够存活下来。
2. 偶然性对发育的结果有一定的作用。转录和翻译的数量存在很大变动，以至于细胞在不同的时间会合成或多或少的重要发育蛋白。
3. 当一个基因产生多种不同的作用时会出现多效性。对于嵌合多效性，每种作用都是相同基因在不同组织的表达而独立产生的。对于相关多效性，一个组织中基因的异常表达会影响其他组织，即使那些组织并不表达这个基因。
4. 当多个基因的突变产生相同的表型时会出现遗传异质性。如果同一个基因在不同的个体中产生

不同的影响（或不同严重程度的相同缺陷），这时出现表型异质性。

5. 致畸因子包括一些化学物质，如酒精和视黄酸、重金属，以及某些病原体和电离辐射。这些因素有害地影响正常发育并能导致畸形和功能缺陷：
    - 酒精可能对细胞和组织有多种作用，导致认知和身体异常综合征；
    - 视黄酸化合物在发育中有活性，但过多或过少都能导致先天异常。
6. 环境激素能结合或阻断激素受体，或者阻断激素的合成、运输或排泄。目前，双酚 A 和其他内分泌干扰性化学物质被认为是男性精子计数低和妇女易患乳腺癌的可能因素。
    - 环境雌激素通过抑制同源异形基因的表达和 Wnt 途径而导致生殖系统异常。这些物质也能引起肥胖症，它们在某些情况下激活一些转录因子，使间充质干细胞倾向分化成脂肪组织。
    - 在某些情况下，环境激素使 DNA 甲基化，并且这些甲基化图式能从一代传递到下一代。这种甲基化通过抑制基因的表达而改变代谢和发育。
7. 癌症可被视为发育受到影响的一种疾病。癌细胞的转移类似于胚胎细胞的运动，一些肿瘤被置入到支持正常形态发生和限制过度细胞增殖的环境中能恢复正常。
    - 细胞之间信息传递的错误能引发癌症。这些错误包括旁分泌因子合成的改变。
    - 在很多情况下，肿瘤具有一个快速分裂的癌干细胞群体，产生更多的癌干细胞，以及更为静态和分化的细胞。

拓展阅读

Anway, M. D., A. S. Cupp, M. Uzumcu and M. K. Skipper. 2005. Epigenetic transgeneration effects of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 308: 1466–1469.

Bissell, M. J., D. C. Radisky, A. Rizki, V. M. Weaver and O. W. Petersen. 2002. The organizing principle: Microenvironmental influences in the normal and malignant breast. *Differentiation* 70: 537–546.

Gilbert, S. F. and D. Epel. 2015. *Ecological Developmental Biology: The Environmental Regulation of Development, Health, and Evolution*, 2nd edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA.

Guerrero-Bosagna, C., M. Settles, B. Lucker and M. K. Skinner. 2010. Epigenetic transgenerational actions of vinclozolin on promoter regions of the sperm epigenome. *PLoS One* Sep 30;5(9). pii: e13100.

Hanahan, D., and R. A. Weinberg. 2011. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 144: 646–674.

Hayes, T. B. and 21 others. 2011. Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: Consistent effects across vertebrate classes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 127: 64–73.

Howdeshell, K. L., A. K. Hotchkiss, K. A. Thayer, J. G. Vandenbergh and F. S. vom Saal. 1999. Plastic bisphenol A speeds growth and puberty. *Nature* 401: 762–764.

Lammer, E. J. and 11 others. 1985. Retinoic acid embryo-pathy. *New Engl. J. Med.* 313: 837–841.

Maffini, M. V., A. M. Soto, J. M. Calabro, A. A. Ucci and C. Sonnenschein. 2004. The stroma as a crucial target in mammary gland carcinogenesis. *J. Cell Sci.* 117: 1495–1502.

Steingraber, S. 2003. *Having Faith: An Ecologist's Journey to Motherhood*. New York: The Berkley Publishing Group.

Sulik, K. K. 2005. Genesis of alcohol-induced craniofacial dysmorphism. *Exp. Biol. Med.* 230: 366–375.

Tang, H. and 14 others. 2016. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell*. doi: org/10/1016/j.stem.2016.02.016.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 25 章

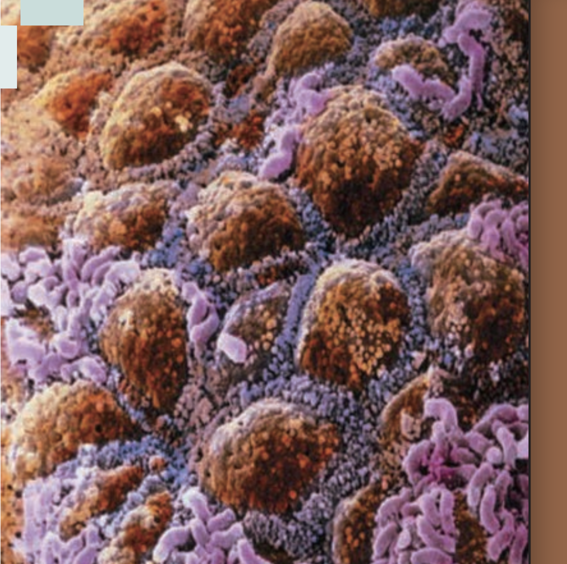
发育和自然环境

发育的生物、非生物和共生调节

为什么微生物应被视为正常发育的重要部分?

很久以来人们一直认为环境对发育仅有次要的作用。几乎所有的发育现象都被认为是核基因的一个“读数”，发育受到环境显著影响的那些生物被看成是很有意思的奇怪现象。当环境因素对发育产生作用时，它们似乎是破坏性的，如致癌剂和环境激素的作用（见第 24 章）。但是，新近的研究证明，环境背景对几乎所有物种的正常发育都有显著的作用，并且动物的基因组进化出能应答环境条件的机制。另外，在共生的关联中，一个生物体的发育受到其他物种生物体的分子产物的调节。实际上，这种情况似乎普遍存在，而不是例外。

发育生物学家在很大程度上忽视了环境影响的一个原因是发育生物学研究中使用的动物，如线虫、果蝇、斑马鱼、非洲爪蛙、鸡和实验小鼠，它们由于缺少环境的影响而被选择出来（Bolker 2012）。这些模式生物使人们很容易研究一些调节发育的基因，但这也使我们产生了一个错误的印象，以为形成胚胎所需的一切都存在于受精卵。鉴于生物多样性的减少和环境污染物的影响等问题，人们对发育的环境调



要点

受精卵内的物质并不能完全决定一个生物体的表型。相反，遗传下来的基因组能应答众多环境因素。正常的发育需要来自共生生物的化学信号，通常是来自细菌。在哺乳动物，肠道微生物群在出生时建立，对肠、毛细管网络和免疫系统的发育有关键的作用。另外，像温度这样的非生物条件对正常发育也可能非常关键。在很多非哺乳类脊椎动物，生物体的性别取决于它在发育过程中接触的温度。最后，生物条件，如饮食、同种拥挤和天敌的存在，能改变发育以使表型更具有适应能力。应答环境信号能帮助生物体整合到它的栖息地。

节产生了新的兴趣（见 van der Weele 1999；Bateson and Gluckman 2011；Gilbert and Epel 2015）。

25.1 环境是产生表型的正常因素

表型可塑性（**phenotypic plasticity**）是生物体通过改变形态、状态、运动或活动程度来应答环境输入的能力（West-Eberhard 2003；Beldade et al. 2011）。如果这些差异发生在动物或植物的胚胎或幼体时期，这种改变表型的能力通常被称为**发育可塑性**（**developmental plasticity**）。我们已经接触到多个发育可塑性的例子。当我们讨论海龟的环境性别决定时（见第 6 章），我们就意识到性别的表型不是受基因组的指令，而是取决于环境。当我们在第 18 章描述剪应力在毛细血管、心脏和骨组织激活基因表达的能力时，我们也注意到环境因素对表型的作用。尽管表型可塑性的研究在植物发育生物学领域起到了关键作用，但可塑性的机制直到最近才在动物中受到关注。这些研究显示，发育可塑性是将动物整合到生态群落的重要手段。

目前认为有两种类型的表型可塑性：反应规范和非遗传多型性（Woltereck 1909；Schmalhausen 1949；Stearns et al. 1991）。对于**反应规范**（**reaction norm**），基因组能够编码连续范围的潜在表型，个体所遇到的环境决定表型（通常是最具有适应性的那一种）的出现。例如，人的肌肉表型受身体随时间推移而经历的运动量所决定（尽管有一个遗传限定的肌肉肥大程度）。反应规范的上限和下限，以及性状在应答环境时变化速度的动力学，都是可被选择的基因组特性。环境条件所产生的各种表型称为**型**（**morph**），偶尔也称为**生态型**（**ecomorph**）。

第二种类型的表型可塑性是**非遗传多型性**（**polyphenism**），涉及环境触发的不连续（非此即彼）表型。一个很明显的例子是海龟的性别决定，一个温度范围诱导胚胎向雌性发育，而另一个温度范围诱导雄性发育。在这两个温度范围之间有一个小的温度范围能产生不同比例的雄性和雌性，但是，这些居间温度不会诱导雌雄两性的动物。非遗传多型性的另一个重要例子见于迁移性沙漠蝗（*Schistocerca gregaria*）。这些蝗虫或是以一种短翅、绿色和独立型存在，或是以一种长翅、棕色和群居型存在（图 25.1A，B）。环境信息决定一个蝗虫若虫换羽后的形态（Rogers et al. 2003；Simpson and Sword 2008）。

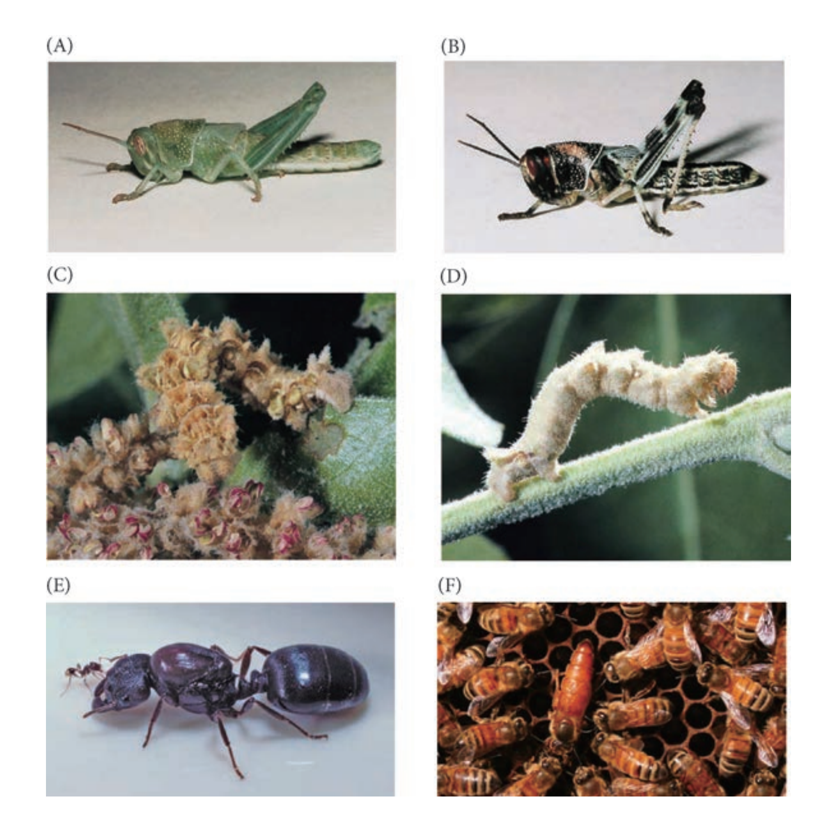


图 25.1 昆虫的发育可塑性。（A，B）沙漠（“灾害”）蝗虫中密度诱导的非遗传多型性。（A）低密度型蝗虫呈绿色并具有微翅。（B）高密度型蝗虫呈深色并具有适合迁移的翅和腿。（C，D）毛虫（*Nemoria arizonaria*）。（C）在春天孵化的毛虫吃幼橡叶并发育出很像橡树花（柔荑花序）的表皮。（D）在夏天孵化的毛虫（这时柔荑花序已经凋谢）吃成熟的橡叶并发育出很像初生细枝的表皮。（E）巨首蚁（*Pheidologeton*）的雌蚁（生殖蜂后）和工蚁。这个图显示大且可育的蚁王和小且不育的工蚁（靠近蚁后的触角）之间的二型现象。这两个姐妹之间的差异是幼体给食的结果。（F）蜜蜂（*Apis mellifera*）的蜂后与其姊妹工蜂之间营养诱导的大小差异（A 图和 B 图来自 Tawfik et al. 1999，由 S. Tanaka 提供；C 图和 D 图由 E. Greene 提供；E 图为 Mark W. Moffett/Getty Images 版权所有；F 图由 D. McIntyre 提供）。

25.1.1　食物诱导的非遗传多型性

食物对决定发育中的动物的表型有重要的作用。食物在发育中的作用可见于毛虫（*Nemoria arizonaria*）。在春天，当这种毛虫在橡树上孵化时，它的形状极像初生的橡树花（柔荑花序）。那些在夏天从卵中孵化出来的幼体如果仍像橡树花，它们就会显而易见。但相反，它们像新生的细枝。这是因为饮食（幼橡叶相对于老橡叶）决定了毛虫的表型（**图 25.1C，D**；Green 1989）。

食物也在很大程度上参与蚂蚁、黄蜂和蜜蜂群体中可育性“蜂后”的形成。在蜜蜂中，成体的雌性或是工蜂或是蜂后。蜂后是蜂巢中唯一具有生殖能力的成员，每天产卵达到 2000 个。蜂后的寿命也比工蜂的平均寿命长 10 倍。工蜂给幼体喂食，只有那些被充分喂食的幼体才能变成蜂后。具有诱导产生蜂后的活性蛋白称为**成蜂王蛋白**（**royalactin**）。这个蛋白质结合蜜蜂幼体脂肪体中的表皮生长因子受体，刺激产生保幼激素，而保幼激素能升高形成卵所需的卵黄蛋白水平（**图 25.2**；Kamakura 2011）。用 RNA 干扰的方法抑制表皮生长因子受体或其下游靶点能使成蜂王蛋白失去作用。

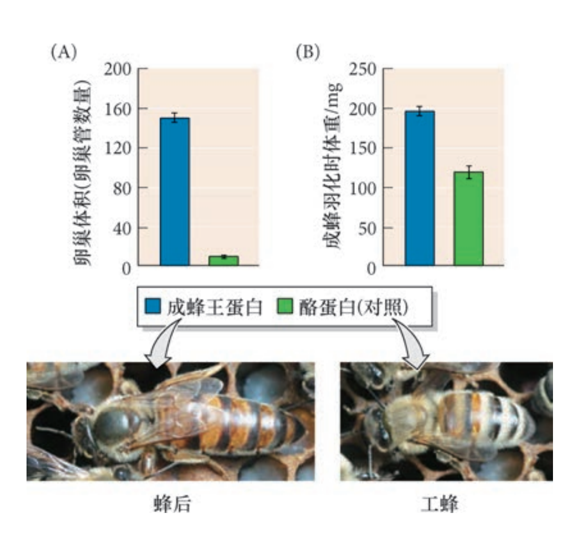


图 25.2　食物诱导的发育变化能产生可育的蜂后或不育的工蜂。成蜂王蛋白在蜜蜂（*Apis mellifera*）中诱导功能性的卵巢（A）和升高体重（B）（参考 Kamakura 2011）。

网络话题 25.1　**蚂蚁群体的诱导性等级决定**　在某些蚂蚁物种，兵蚁的减少创造了诱导更多工蚁变成兵蚁的条件。

粪便有时很重要　对于一个雄性粪甲虫（*Onthophagus*）来说，生命中最重要的事情是它在幼体时所摄入的粪便的数量和质量。无角的雌性粪甲虫挖掘地洞，然后收集粪球并将其埋在洞里。雌性粪甲虫在每个粪球上产一个卵；当幼体孵化时，它们就会吃这些粪便。幼体吃完粪球后开始变态，雄虫的解剖和行为特征取决于母体提供的这种食物的质量和数量（Emlen 1997；Moczek and Emlen 2000）。食物的数量和质量决定幼体在最后一次换羽过程中保幼激素的效价。这进而决定幼体在变态时的大小，并能正调节形成触角的成虫盘的生长（**图 25.3A**；Emlen 1999；Moczek 2005）。

如果在最后一次换羽的敏感时期将保幼激素给予极小的食粪金龟（*Onthophagus taurus*）雄虫，它们头部的表皮就会长出触角。因此，一个雄性粪甲虫是否具有触角并不取决于它的基因，而是取决于它母亲留给它的食物。触角只有在雄性粪甲虫的幼体达到一定大小时才开始生长。达到这个阈值后，触角将会快速生长[1]。所以，尽管身体的大小呈正态分布，但触角的大小却呈现双峰分布：差不多一半的雄性粪甲虫没有触角，而另外一半的触角却特别长（**图 25.3B**）。

有触角的雄性粪甲虫守卫雌性粪甲虫挖掘的地洞，用触角阻止其他雄虫与雌虫交配。触角的大小决定一个雄虫的行为和成功繁殖的机会；具有最长触角的雄虫在这样的竞争中获胜。但那些没有触角的雄虫会怎么样？无触角的雄虫不与有触角的雄虫争夺雌虫，因为它们像无触角的雌虫一样，自己能掘洞。这些“鬼祟”雄虫将自己挖掘的洞与雌虫的洞相交，在有触角的雄虫守卫雌虫的洞口时与雌虫交配（**图 25.4**；Emlen 2000；Moczek and Emlen 2000）。的确，在大多数群体中，大约一半的受精卵来自无触角的雄虫。总之，产生触角的能力受遗传控制，而是否产生触角及触角的大小受环境调节。

[1] 从发育的角度，初级和次级雄性性别特征之间存在一个权衡。形成一个大的触角似乎会消耗形成阴茎的资源。触角和阴茎的生长速度可能被食物上调的 Foxo 转录因子所调节（Parzer and Moczek 2008；Snell-Rood and Moczek 2012）。

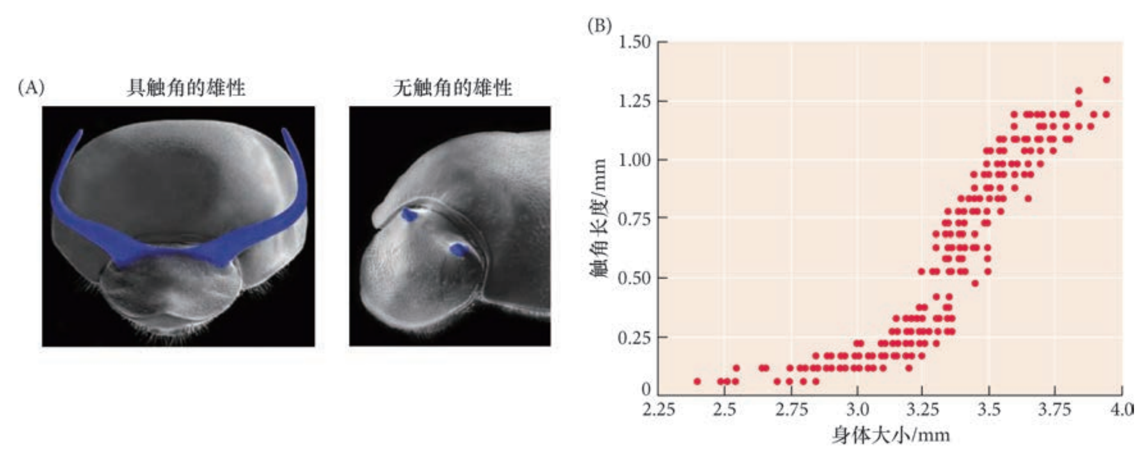


图 25.3 食物与粪甲虫（*Onthophagus*）触角的表型。(A) 食粪金龟（*Onthophagus taurus*）的具触角和无触角雄性（触角被人工着色）。一个雄性粪甲虫是否具有触角受最后一次换羽过程中保幼激素效价的决定，这进而决定幼体的大小。(B) 身体大小的阈值极其敏感，低于这个阈值时触角不能形成，而高于这个阈值时触角的生长与身体的大小呈线性关系。这种阈值效应使一些雄虫不能形成触角，而使另一些雄虫形成大的触角，但只有极少的雄虫形成居间大小的触角（参考 Emlen 2000；照片由 D. Emlen 提供）。

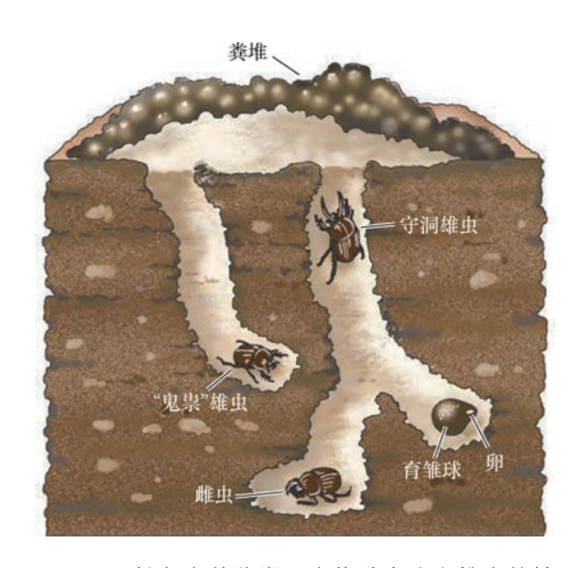


图 25.4 触角在某些粪甲虫物种中决定雄虫的繁殖策略。雌虫在一堆粪下的土里掘洞并将粪球带到洞里。这将是幼体的食物供应。具触角的雄虫守卫洞口并与雌虫反复交配。它们尽力阻止其他雄虫进入洞内，通常是具有最长触角的雄虫在争夺中获胜。小的无触角雄虫不守卫洞口，但将自己掘的洞与雌虫的洞连接起来。这样，它们就能与雌虫交配，然后从洞中出来，而不受守洞雄虫的挑战（参考 Emlen 2000）。

食物与 DNA 甲基化 食物的变化能引起 DNA 甲基化的改变，进而使表型发生变化。在上述蜜蜂表型的例子中，阻止 DNA 甲基化也能使幼体从工蜂转变成蜂后（Kucharski et al. 2008；Lyko et al. 2010）。

这种食物诱导的 DNA 甲基化改变也能影响哺乳动物的表型。Waterland 和 Jirtle（2003）用小鼠 *Agouti* 基因的 *viable-yellow* 等位基因证明了这一点。*Agouti* 是一个显性基因，使小鼠的毛颜色呈微黄色；它也通过影响脂质代谢而使小鼠变胖。在 *viable-yellow* 等位基因中有一个转座元件被插入到 *Agouti* 基因。这个转座元件含有一个能使 *Agouti* 基因在整个皮肤表达的顺式调控元件。而且，虽然成体基因组的大部分区域几乎没有任何种内的 CpG 甲基化差异，但在这些转座子位点上，个体之间却有很大的 DNA 甲基化差异。这样的 CpG 甲基化能阻断该基因的转录。当 *Agouti* 基因的启动子被甲基化时，这个基因就不能被转录。这时小鼠的毛保持黑色，脂质代谢不受影响。

Waterland 和 Jirtle 给携带 *viable-yellow* 等位基因的妊娠刺豚鼠喂食甲基供体补充剂，包括叶酸、胆碱和甜菜碱。他们发现，甲基供体补充得越多，胎儿基因组中转座子插入位点的甲基化程度就越高，后代的色素沉积也就越深。尽管**图 25.5** 中的两个小鼠在遗传上完全相同，但它们的母亲在孕期的食物却不相同。没有接受甲基供体补充的母鼠生出的小鼠更肥胖并且呈黄色，也就是说，*Agouti* 基因的启动子没有被甲基化，所以这个基因具有活性。接受叶酸补充剂的母鼠生出的小鼠具有光泽且呈暗色，即甲基化的 *Agouti* 基因没有被转录。

差异性基因甲基化与人类健康问题相关。妇女在妊娠期间的饮食限制会使她的孩子在成年时出现心脏或肾脏问题。而且，在大鼠中的研究显示，孕鼠的产前饮食中蛋白质和甲基供体的浓度差异能在幼

鼠的肝中影响基因的表达和随后的代谢（Lillycrop et al. 2005；Gilbert and Epel 2015）。这样就出现一个新的预防医学领域，即健康和疾病的发育起源（见网络话题 24.3）。

25.1.2　反捕食多型性

想象一下，一个物种的幼体在它们的池塘或潮水潭中经常会遇到特定捕食者的攻击。再想象一下，一个个体能识别捕食者分泌的可溶性分子，并且能利用这些分子来激活一些使该个体对捕食者不再可口的结构的发育。为了防御捕食者而调节自身发育的能力称为捕食者诱导性防御，或称**反捕食多型性**（**predator-induced polyphenism**）。

要证明反捕食多型性，我们必须说明表型的变化是由于捕食者的存在而引起的，并且这种变化在捕食者存在的情况下能增加携带者的生存能力（Adler and Harvell 1990；Tollrian and Harvell 1999）。**图 25.6A** 显示几个物种的普通型和捕食者诱导型。每种情况下都有两种特征：①诱导型更成功地适应捕食者的存在；②捕食者周围的水中有可溶性滤液，能诱导变化。被捕食者释放并能诱导猎物产生防御的化学物质称为**利它素**（**kairomone**）。

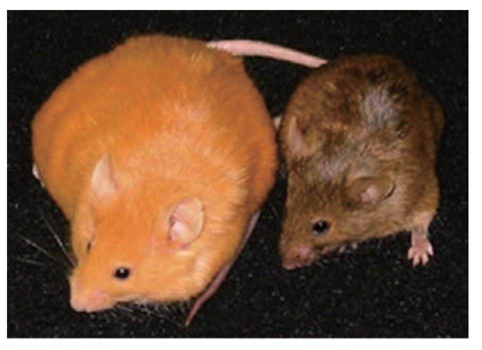


图 25.5　孕期的饮食能影响表型。这两个小鼠在遗传上完全相同，都含有 *Agouti* 基因的 *viable-yellow* 等位基因，*Agouti* 基因的蛋白质产物能将棕色转变成黄色并能加速脂肪储存。肥胖黄色小鼠的母亲在怀孕期间没有接受甲基供体补充剂（如叶酸）。胚胎的 *Agouti* 基因没有被甲基化，Agouti 蛋白被合成。光泽棕色小鼠的母亲在孕期接受了甲基供体补充剂。*Agouti* 基因受到抑制，Agouti 蛋白没有被合成（参考 Waterland and Jirtle 2003，照片由 R. L. Jirtle 提供）。

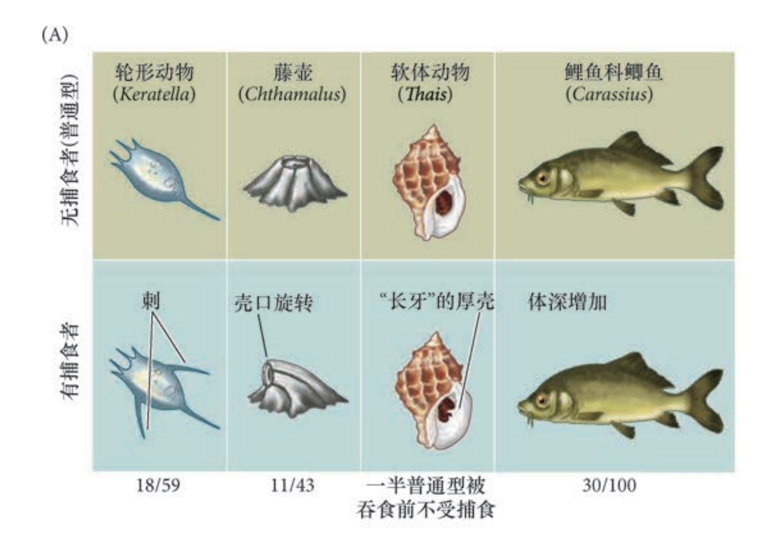
一些轮形动物在培养有它们的捕食者的池塘中发育时将会改变形态（Dodson 1989；Adler and Harvell 1990）。捕食性轮形动物（*Asplanchna*）释放一种可溶性化合物，能诱导猎物性轮形动物（*Keratella slacki*）的卵发育成稍大体型的个体，并且这些个体的前刺要比正常情况下长 130%，使捕食者难以猎取。在接触捕食它的蟹类的流出液时，蜗牛（*Thais lamellosa*）发育出一个厚壳，并在壳口处长出一个“牙”。在蜗牛的混合群体中，蟹子将一多半普通型的蜗牛吃完后才会吃这些厚壳的蜗牛（Palmer 1985）。

反捕食多型性最有意思的机制之一是某些棘皮类动物的幼体。在接触它们的鱼类天敌的黏液时，海胆的长腕幼体能进行自我克隆，芽出一小组细胞，迅速变成自身的幼体。这个微小的长腕幼体使鱼无法看到，从而不会被鱼吃掉（Vaughn and Strathmann 2008；Vaughn 2009）。

水蚤与它们的亲属　单性生殖的水溞（*Daphnia*）的反捕食多型性不仅对它们自身有益，对它们的后代也有益（Harris et al. 2012）。当年幼的僧帽溞（*Daphnia cucullata*）遇到幽蚊的捕食性幼体时，它们的“头盔”就会比正常情况长大两倍（**图 25.6B**）。这样就会降低僧帽溞被幽蚊幼体捕食的机会。如果年幼的僧帽溞接触幽蚊幼体游过的水中提出物，这样也能发生头盔的诱导。Agrawal 及其同事（1999）证明，这样被诱导的水溞的后代在没有捕食者的情况下头部形态也具有同样的变化。这有可能是幽蚊幼体的利它素在成体和发育的胚胎中调节基因的表达。尽管我们还不清楚利它素的性质是什么，但其受体可能是一些特殊的神经元，并且在一些物种，触角对接收利它素有关键作用（Weiss et al. 2012，2015）。这种影响似乎通过内分泌途径发挥作用。利它素上调保幼激素和胰岛素信号途径，激活多种转录因子基因的转录（**图 25.6C**；Miyakawa et al. 2010）。像粪甲虫一样，这里也存在一种权衡：受诱导的水溞将其资源用于形成保护性结构后就只能少产卵（Tollrian 1995；Imai et al. 2009）。

捕食者诱导的两栖类表型　反捕食多型性不仅仅局限于无脊椎动物[2]。在两栖类，生长在池塘或与其他物种共养的蝌蚪可能会与水族馆的蝌蚪有显著差异。例如，在饲养捕食性蜻蜓属（*Anax*）幼体（被网笼

[2] 的确，脊椎动物的免疫系统是反捕食多型性的一个绝好的例子。我们的免疫细胞利用来自我们的捕食者（病毒和细菌）的化学物质来改变我们的表型，使我们对它们产生更好的防御（见 Frost 1999）。



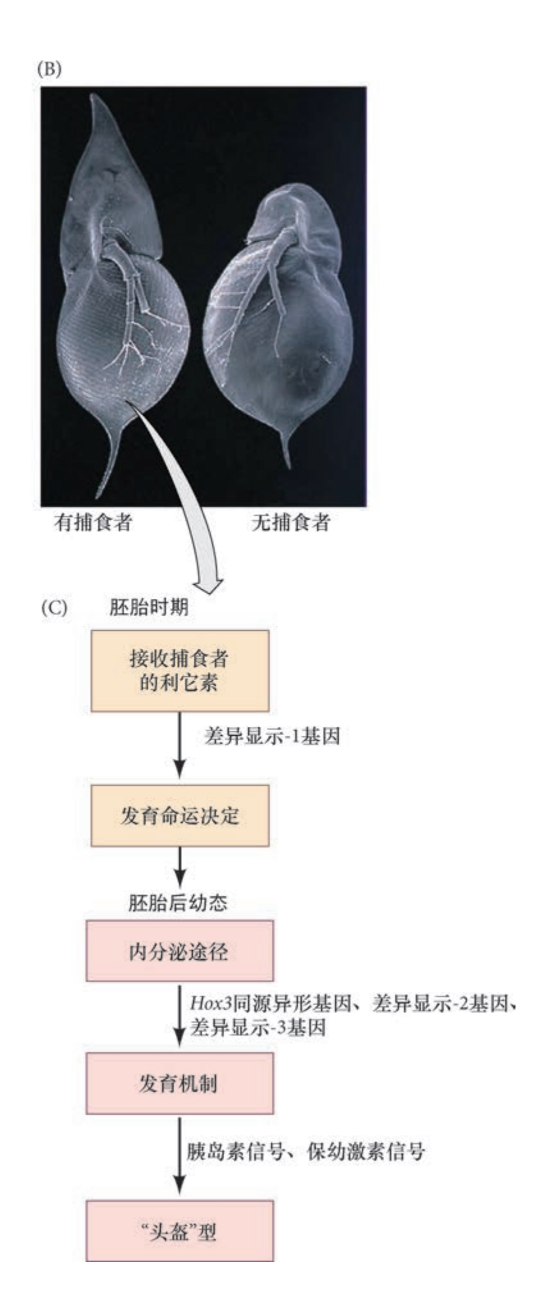


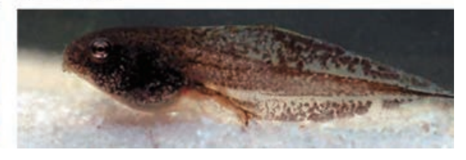
图 25.6 捕食者诱导的防御。(A) 各种生物的普通型（上列）和捕食者诱导型（下列）。每个纵列下面的数字代表诱导和非诱导的个体都与捕食者接触时生存下来的比例（多次实验结果）。(B) 扫描电镜图显示相同遗传背景的水溞 (*Daphnia*) 个体中的捕食者诱导型（左图）和普通型（右图）。在捕食者化学信号存在的情况下，水溞长出一个保护性"头盔"。(C) 水溞通过内分泌系统发育出保护性表型的可能机制。差异显示 -1 基因 (*DD1*) 被认为在胚胎时期参与接收利它素和（或）命运决定。它可能对信号的神经接收有作用。其他基因可能在胚胎后的幼体中参与形态发生 (A 图参考 Adler and Harvell 1990 以及其中引用的参考文献；B 图由 A. A. Agrawal 提供；C 图参考 Miyakawa et al. 2010)。

限制而不能食蛙的幼体）的玻璃缸里，新孵化的木蛙 (*Rana sylvatica*) 幼体比饲养在没有捕食者的缸里的幼体长得更小。并且，它们的尾部肌肉组织发达，能快速转动和游动 (Van Buskirk and Relyea 1998)。在缸里增加更多的捕食者时会使尾鳍和肌肉组织不断增大，事实上，最初出现的一种多型性可能是测定捕食者数量（和类型）的一个反应规范。

McCollum 和 Van Buskirk (1996) 证明，捕食者存在时，树蛙 (*Hyla chrysoscelis*) 蝌蚪的尾鳍长得很大并且变成鲜红色（图 25.7）。这种表型使蝌蚪能快速游走，并能偏离捕食者对尾部的攻击。这时的权衡是那些不被诱导的蝌蚪在没有捕食者的环境中生长缓慢，并且会更好地生存。对于一些物种，表型可塑性可以逆转，在没有捕食者时便会恢复到非诱导的表型 (Relyea 2003a)。

捕食者诱导型的代谢与非诱导型的代谢也会有显著差异，这能产生重要的影响。Relyea (2003b, 2004) 发现，捕食者释放的化学信号使一些杀虫药（如甲萘威，Sevin™）的毒性比没有捕食者信号时要高 46 倍。牛蛙和青蛙的蝌蚪暴露于捕食者的化学物质时对甲萘威尤其敏感。Relyea 将这些发现与两栖类群体的全面减少联系起来，认为一些国家应该在自然条件下检测化学物质的毒性，包括天敌应激时的毒性。他给出这样的结论 (Relyea 2003b)，"忽视相关的生态学会错误评估一个杀虫药在自然中的毁坏性，然而，

正是杀虫药在自然条件的毁坏性才值得关注。已经积累的证据有力地说明自然环境中的杀虫药与两栖类的减少有关”。

(A) 有捕食者　(B) 无捕食者

图 25.7　蛙蝌蚪的反捕食多型性。(A) 捕食者幼体的信号存在时，树蛙（*Hyla chrysoscelis*）蝌蚪发育出强壮的躯干肌肉和红颜色。(B) 捕食者信号不存在时，蝌蚪长得光亮，这有助于它们竞争食物（照片由 T. Johnson/USGS 提供）。

震动信息能改变发育节奏　一些环境信号诱导的表型变化不只局限于解剖结构，它们也能改变发育过程的节奏。哥斯达黎加红眼树蛙（*Agalychnis callidryas*）的胚胎利用卵团传递的震动逃避食卵的蛇。这些卵团产在悬浮于池塘上的树叶。通常，胚胎在 7 天内发育成蝌蚪，然后这些蝌蚪脱离卵团，掉进池水。但是，蛇在吃卵时产生的震动使卵团中的其他卵开始颤搐运动（在几秒钟之内），启动孵化并掉进池塘。胚胎在第 5 天时就开始具备了孵化运动的能力（图 25.8）。有意思的是，胚胎演变出仅应答某个特定频率和间隔的震动（Warkentin et al. 2005，2006；Caldwell et al. 2009）。接近 80% 的剩余胚胎能以这种方式逃避蛇的捕食，有研究表明，只是这些震动（不是气味或视觉）在胚胎中提示孵化运动。这里也有一种权衡：尽管这些胚胎逃避了它们的蛇天敌，但它们遇到水生的捕食者时却比完全发育的胚胎面临更大的危险，因为它们的肌肉组织没有充分发育。

> **观察发育 25.1**　Karen Warkentin 实验室的一个实验，其中一条蛇试图吞食一团红眼树蛙的胚胎，它在吞咽其早餐时却只能看着其他潜在食物纷纷孵化。

科学家讲座 25.1　Karen Warkentin 博士讨论她关于蝌蚪孵化可塑性的工作。

25.1.3　温度是一种环境因素

温度与性别　在很多物种，温度控制睾丸或卵巢的发育；我们在第 6 章简单介绍了这种温度依赖的性别决定。温度依赖的性别决定机制在物种之间可能会有很大的差异，但在很多情况下，一些转录因子似乎被温度诱导，这些转录因子很可能促进卵巢或者精巢的形成。这种类型的性别决定在“冷血”脊椎动物中并不罕见，如鱼类、海龟和鳄鱼（Crews and Bull 2009）。温度依赖的性别决定既有利也有弊。一个可能的益处是它使物种的有性生殖不受 1:1 的性别比例所限制。在鳄鱼中，极端温度产生雌性，而适中的温度产生雄性，雌性和雄性的性别比例能达到 10:1（Woodward and Murray 1993）。在这些物种中，雌性的数量限定群体的大小，这个比例会比基因型性别决定所要求的 1:1 的比例更有利于生存。





图 25.8　红眼树蛙（*Agalychnis callidryas*）的反捕食多型性。(A) 当蛇捕食一团树蛙卵时，卵团中大多数剩余的胚胎对震动做出反应而提前孵化（箭所示）并掉进水中。(B) 未成熟的蝌蚪，在第 5 天时被诱导孵化。(C) 在第 7 天正常孵化的蝌蚪，肌肉组织的发育更为完全（由 K. Warkentin 提供）。

温度依赖的性别决定的主要弊端可能是一个物种能够持续生存

的温度范围缩小。因此可以想象，热污染（无论是局部性还是因为全球变暖）能使一个物种在某个地区消失（Janzen and Paukstis 1991）。对于海龟，较高的温度通常产生雌性（在 29℃时性别比例均等），如果温度的上升持续较长时间，这些动物就可能会变得特别脆弱[3]（Hawkes et al. 2009；Fuentes et al. 2010）。

Charnov 和 Bull（1977）认为，环境对性别的决定可能适应于以斑块为特征的栖息地，也就是说，在一个栖息地，有一些区域有利于雄性，而其他区域有利于雌性。Conover 和 Heins（1987）为这个假说提供了证据。在某些鱼类物种，大的雌性个体具有优势，因为较大的个体对应于更高的生殖力。如果你是一条雌性大西洋银汉鱼（*Menidia menidia*），在繁殖季节早期出生可能更为有利，因为你会有一个更长的摄食季节，因此也就会长得更大。但是，雄鱼的大小并不影响交配成功率或最终结果。在南部范围的大西洋银汉鱼，雌鱼的确在繁殖季节早期出生，温度似乎对这种生殖方式起主要作用。但是，在这个范围的最北部，这个物种没有环境依赖的性别决定，在所有的温度下都产生 1 ∶ 1 的性别比例。Conover 和 Heins 推测，更北部的群体只有一个较短的摄食季节，所以雌鱼更早地出生并没有益处。因此，这个物种的鱼在那些自适应的区域呈现出环境依赖的性别决定，而在那些没有自适应的区域呈现出基因型依赖的性别决定。

网络话题 25.2 **逆境改变发育** 这个话题描述一些生物面临环境压力时改变它们的发育。在团藻（*Volvox*），春天的温度升高促使性行为。在盘基网柄菌（*Dictyostelium*），食物匮乏引起多细胞化。其他生物干脆停止发育，等待条件好转。

科学家讲座 25.2 John Tyler Bonner 博士讨论他的开创性工作，证明环境如何改变发育，将一个单细胞生物变成多细胞生物。

蝴蝶翼 地球的热带地区通常有一个湿热的季节和一个干冷的季节。在非洲，二态型马拉维蝴蝶（*Bicyclus anynana*）的非遗传多型性具有适应这些季节变化的能力。干（冷）季节型蝴蝶是一种具有斑点的棕色蝴蝶，隐藏在森林地被的枯叶中生存。相反，湿（热）季节型蝴蝶每天都飞行，具有明显的腹侧眼斑，能躲避捕食性鸟类和蜥蜴类的攻击（图 25.9；Brakefield and Frankino 2009；Olofsson et al. 2010；Prudic et al. 2015）。

决定马拉维蝴蝶的季节性颜色沉积的因素不是食物，而是它在蛹化期间的温度。低温产生干季节型；较高温度产生湿季节型（Brakefield and Reitsma 1991），并且温度调节表型的分子机制也已经清楚。在幼体后期，*Distal-less* 基因在翅成虫盘的转录只局限在一小组细胞，这些细胞将变成每个眼斑的信号中心。在早期的蛹，较高的温度能增高 20- 羟基蜕皮激素的形成（见第 21 章）。这个激素维持和扩展 *Distal-less* 基因在翅成虫盘眼斑区域的表达，因而形成显著的眼斑。在干冷季节，较低的温度阻止 20- 羟基蜕皮激素在蛹中积累，Distal-less 信号中心就不能维持。在没有 Distal-less 信号的情况下，眼斑便不能形成（Brakefield et al. 1996；Oostra et al. 2014）。Distal-less 蛋白被认为是决定眼斑大小的转录因子（见图 25.9）。在马拉维蝴蝶中我们看到了非遗传多型性的适应性意义，以及这种类型的发育可塑性如何将一个生物整合到它的环境。

在蛱蝶科蝴蝶（*Araschnia*），有报道显示激素（如 20- 羟基蜕皮激素）介导调控翼表型的环境信号的重要性（图 25.10）。蛱蝶科蝴蝶发育出交替的表型，取决于第 4 和第 5 龄是否经历一个比特定关键日长更长或更短的光期（白日的时间）。低于这个关键日长，蜕皮激素水平较低，蝴蝶形成春天蝴蝶特征的橙色翼；高于这个关键点，蜕皮激素的水平升高，蝴蝶产生夏天的色素沉积。夏天的形态能在春天的蛹中通过注射

[3] 研究人员推测，某些恐龙可能具有温度依赖的性别决定，它们的突然死亡可能是因为轻微的温度变化而造成的，这种温度变化产生了只有雄性或雌性才能孵化的条件（见 Ferguson and Joanen 1982；Miller et al. 2004）。不像许多海龟物种，其中的成员具有很长的育龄，能蛰伏多年，并且雌性能够储存精子，恐龙可能只有短暂的育龄，并且也不具备在长期的恶劣情况下蛰伏的能力。

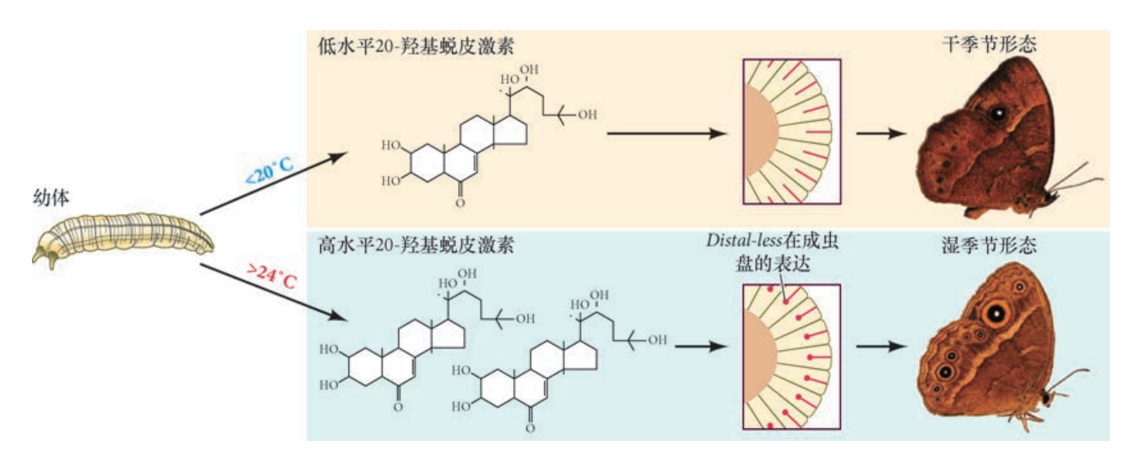


图 25.9　马拉维蝴蝶（*Bicyclus anynana*）的表型可塑性受蛹化期间的温度所调节。较高温度（无论是在野生环境还是在实验室控制的条件下）使 20- 羟基蜕皮激素积累，这个激素能维持 *Distal-less* 基因在蛹成虫盘的表达。*Distal-less* 基因的表达区域代表每个眼斑的中心。在干冷季节，20- 羟基蜕皮激素不能形成，*Distal-less* 基因在成虫盘的表达能够起始但不能维持，眼斑不能形成（由 S. Carroll 和 P. Brakefield 提供）。

20- 羟基蜕皮激素而被诱导出来。而且，改变 20- 羟基蜕皮激素注射的时间能产生一系列不存于野生环境的居间形态（Koch and Bückmann 1987；Nijhout 2003）。

网络话题 25.3　**行为表型的环境诱导**　多种行为，包括学习和焦虑倾向，能被环境通过发育途径而诱导出来。

25.2　多型性的生命周期

25.2.1　幼体附着

自由游动的海洋生物幼体通常需要在食物源附近或牢固的基质上附着，然后进行变态。海洋生物幼体在接触到一个特定的环境信息之前延缓发育的能力称为**幼体附着**（**larval settlement**）。尤其是软体动物，经常会有非常特异的附着信息（Hadfield 1977；Hadfield and Paul 2001；Zardus et al. 2008）。在某些情况下，软体动物的猎物提供这种信息，而在其他情况下基质本身释放一些能使幼体起始附着的分子。这些信息可能不是持续的，但它们需要成为环境的一部分，使幼体继续发育[4]（Pechenik et al. 1998）。

在很多海洋无脊椎动物，幼体附着和后续的无脊椎动物群体分布受到称为**生物膜**（**biofilm**）的细菌垫子所调节（Hadfield 2011）。来自这些潜在食物源的化学物质被幼

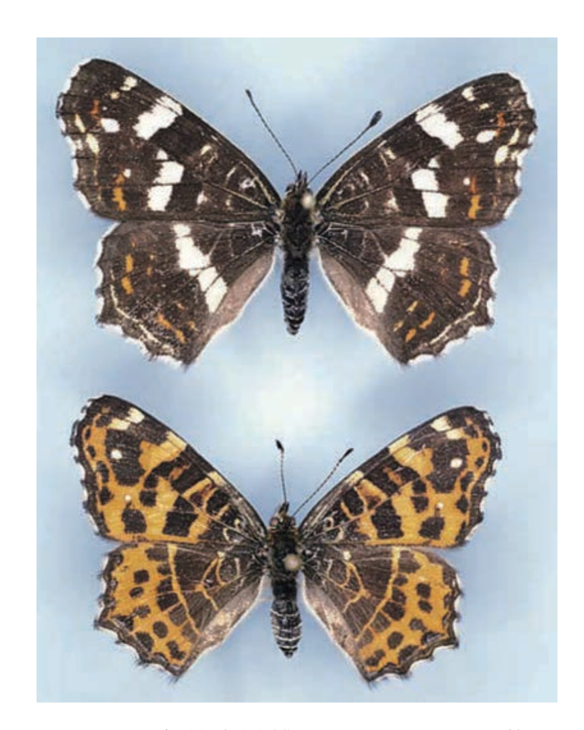


图 25.10　欧洲地图蝶（*Araschnia levana*）的环境诱导型。橙色型（下图）在春天形成，这时幼体中蜕皮激素的水平低。具有白色条纹的深色型（上图）在夏天形成，这时较高的温度和较长的光期在幼体中诱导更多的蜕皮激素。瑞典博物学家林奈（Linnaeus）曾将这两个型分类成不同的物种（由 H. F. Nijhout 提供）。

[4] 基质对幼体附着和变态的重要性在 1880 年被首次证明，当时约翰 • 霍普金斯大学的胚胎学家 William Keith Brooks 受到邀请为切萨皮克（Chesapeake）湾不景气的牡蛎产业提供帮助。几十年以来，牡蛎被不断地从海湾挖走，然后总会有一个新的群体去取代它们。但到了 1880 年，每年只有少量的牡蛎。造成这种下降的原因是什么？在用牡蛎幼体进行实验时，Brooks 发现，美洲牡蛎（*Crassostrea virginica*），不像被研究较多的欧洲食用牡蛎（*Ostrea edulis*），需要一个硬的基质进行变态。很多年来，采牡蛎的人将牡蛎壳仍回海中，但随着人行道的出现，他们开始将牡蛎壳卖给水泥厂。Brooks 的解决方案是将牡蛎壳继续仍回海湾。牡蛎群体随之出现，巴尔的摩（Baltimore）码头也可以继续卖牡蛎。牡蛎壳上的生物膜似乎很关键（Turner et al. 1994）。

体用于附着和变态的信号。人类根据自己的愿望将大的实物置入海洋，这正在影响一些群体的分布。这样的实物很容易招募生物膜和海洋动物群。早在 1854 年，达尔文猜测藤壶在它们的幼体附着于船体时从一个地域被运送到新的地域。的确，生物膜帮助无脊椎动物幼体附着和群体形成的作用可以解释藤壶和管状蠕虫（“生物污损性无脊椎动物”）在船板上积累、堵塞下水道和损坏水下结构的能力（Zardus et al. 2008）。

海底 大多数已知使幼体附着和变态的信息涉及基质释放的化学物质；这些化学物质能指示食物资源的存在，或潜在地诱导幼体的变态。但是，至少在一种情况下，震动信息似乎将海洋生物幼体引导至珊瑚礁。珊瑚礁是地球上最大的生物结构，它们通过招募浮游的珊瑚（刺胞动物）幼体而生长。虽然化学信息只在礁石的近距离范围内发挥作用，但“礁石的噪声”，即虾爪的响声和成千上万珊瑚鱼的噪声，从远距离吸引珊瑚幼体。Vermeij 及其同事（2010）对加勒比海的礁体进行了录音并发现幼体能游到声音源，甚至在实验室也是这样。这些发现意味着珊瑚礁面临噪声污染，以及热污染和化学污染的威胁。主导这个研究的 Steve Simpson（2010）告诫说，“近年来人类活动产生的噪声急剧增加，现在的小船、航运、钻井、打桩和抗震试验有时淹没了鱼类和虾的自然声音”。

25.2.2 锄足蟾的艰辛生活

锄足蟾（*Scaphiopus couchii*，*Spea multiplicata*，以及它们的近缘物种）具有一种应对恶劣环境的非凡策略（Ledón-Rettig and Pfennig 2011）。它们能被环境触发出不同的型。北美锄足蟾（*Scaphiopus*）能被索诺兰（Sonoran）沙漠上伴随着第一次春季暴雨的雷声从冬眠中唤醒[5]。它们在雨水形成的临时池塘中繁殖，并且胚胎很快就发育成幼体。幼体变态后，年幼的蟾蜍返回沙漠，钻进沙里，直到来年的暴雨将它们唤醒。

沙漠的池塘是一些会迅速干涸或持续下来的短暂水池，取决于它们的初始深度和降雨的频率。对于这种池塘中的蝌蚪，我们可以想象出两种可能性：①池塘的水一直持续到蝌蚪变态，那么幼蟾蜍就能生存；②在蝌蚪还没有完成变态时池水干涸，那么蝌蚪就会死亡。但是，对于某些锄足蟾物种来说，它们演变出第三种方案——它们变态的时间受池水的控制。在多个物种的北美锄足蟾，如果池水维持在可存活的水平，那么胚胎就以正常的速度发育，食藻类的蝌蚪发育成蟾蜍。但是，如果池水开始干涸而越来越少，一些蝌蚪就会进入另一种发育途径。它们发育出一个更宽的口和强有力的颌肌，使得它们能吃（除其他功能以外）其他蝌蚪（图 25.11）。这些食肉性的蝌蚪迅速变态，变成了一个小版本的幼态锄足蟾。它们生存下来，而其他蝌蚪却因为失水而丧生（Newman 1989，1992）。



图 25.11 锄足蟾（*Scaphiopus couchii*）蝌蚪的非遗传多型性。普通型（右图）是杂食动物，以节肢动物和藻类为食物。但是，在池水快速干涸时，一种食肉（同类相食）型就会出现（左图）。它发育出一个更宽的口和大的颌肌，肠被改变以适应肉类食物。中间的照片显示同类相食，一个大的蝌蚪正在吃一个小的同塘伙伴（照片为 Wild Horizon/Getty Images 版权所有；绘图由 R. Ruibel 提供）。

北美锄足蟾快速变态的信号似乎是水体积的变化。在实验室中，北美锄足蟾的蝌蚪能感知水缸中水的缺失，它们变态的加速取决于水量减少的快

[5] 像珊瑚幼体，蟾蜍也对震动敏感，噪声污染可能影响它们的生存。摩托车的声音与雷声一样，使蟾蜍走出冬眠，从而在酷热的沙漠阳光下死亡。

慢。应激诱导的促肾上腺皮质素释放素信号系统似乎调节这种作用（Denver et al. 1998；Middlemis Maher 2013）。脑中促肾上腺皮质素释放素的增高被认为随后能引起触发变态的甲状腺激素的升高（Boorse and Denver 2003）。与很多其他非遗传多型性一样，这些发育的变化受内分泌系统的调节。感觉器官发出一个神经信号，以调节激素的释放。激素进而以协同和相对快速的方式改变基因的表达。

在其他物种的北美锄足蟾，非遗传多型性取决于食物。在 *Spea multiplicata*，食肉型似乎被年轻幼体在食虾时所诱导。这种食肉型的蟾蜍进而能吃更大的猎物，包括北美锄足蟾的蝌蚪，而其他幼体主要食用有机屑物（Levis et al. 2015）。食肉的蝌蚪比食有机屑物的蝌蚪长得更快，如果池水快速干涸，它们也有可能生存下来。

网络话题 25.4 **压力是一种发育因素**　机械压力在很多组织中对基因表达有关键作用，包括骨骼、心脏和肌肉。如果没有物理力，我们将不能发育出膝盖骨。

25.3　发育共生

除了上述环境调节发育的生物和非生物关系之外，还有一种特殊类型的生物关系，称为共生。与这个术语常被用于表示互益的关系相反，**共生**（**symbiosis**）这个词（希腊语，*sym*，“共同”；*bios*，“生命”）可以代表不同物种的生物之间的任何密切联结（见 Sapp 1994）。在很多共生关系中，其中一种生物体比另一种生物大很多，小的生物可以生活在大生物的表面或身体内部。在这样的关系中，大的生物被称为**宿主**（**host**），小的生物被称为**共生生物**（**symbiont**）。下面是两个重要类别的共生[6]。

- **寄生**（**parasitism**）是一个伙伴以另一个伙伴为代价来获益。这种寄生关系的一个例子就是生活在人类消化道中的绦虫，它们在那里偷取宿主的养分。
- **互利共生**（**mutualism**）是对双方都有益的关系。这种共生关系中一个突出的例子是埃及燕鸻（*Pluvianus aegyptius*）与尼罗鳄（*Crocodylus niloticus*）之间的伙伴关系。尽管鳄鱼将大多数鸟类视为自己的食物，但它却能让燕鸻在身体上走动，以它身体上的有害寄生物为食。在这种互益的关系中，鸟获取了食物，而鳄鱼摆脱了寄生物。

另外，**内共生**（**endosymbiosis**），即“在内部生活”，这个术语被广泛用于描述一个细胞在另一个细胞内生存的状态，这种情况被认为能解释真核细胞中细胞器的进化（见 Margulis 1971），以及本章后面将会详述的沃尔巴克氏体的发育共生。

共生，特别是互利共生，是地球上生命的基础。固氮菌（*Rhyzobium*）与豆科植物根之间的共生将大气中的氮转化成一种可用于合成氨基酸的形式，所以对生命是必不可少的。真菌与植物的共生普遍存在，通常对植物的发育是必要的（见 Gilbert and Epel 2015；Pringle 2009）。例如，兰花种子没有能量储存，所以发育中的兰花植物必须从菌根真菌中获得碳。这就是为什么兰花在潮湿的热带环境下（有丰富的真菌）生长得更好。全球的海岸带生态系统受海草、蛤和生活在蛤鳃内的硫化物氧化菌之间的三重共生所维持（van der Heide et al. 2012）。

在某些情况下，一个器官的发育被来自一个不同物种的信号所引发。在某些生物，这种关系变成了一种约束性条件，因为共生生物已经密切地整合到宿主生物的体内，以至于没有共生生物，宿主便不能发育（Sapp 1994）。的确，新近的证据显示，发育共生是规则而不是例外（McFall-Ngai 2002；McFall-Ngai et al. 2013，2014）。一个宿主和它的永久共生生物能组成一个复合生物体（Rosenberg et al. 2007；Gilbert and Epel 2015），这称为**全共生体**（**holobiont**）。

---

[6] 共栖的定义是对一个伙伴有益而对另一个伙伴既无益也无害的共生关系，有时被认为是第三个类别的共生。尽管很多共生从表面上看似共栖，新近的研究说明很少有共生关系对于任何一方是真正中性的。



发育辅导课 发育共生 Scott Gilbert 概述发育共生中一些极其迷人的例子，其中，发育需要两个或更多的物种才能完成。

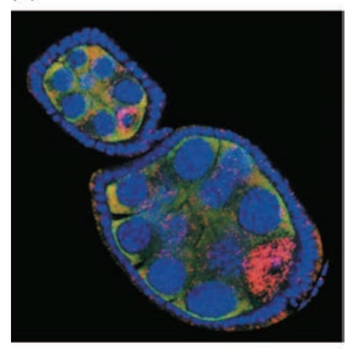
25.3.1 发育共生的机制：使伙伴相聚

所有的共生联系都必须面临代代维持伙伴关系的挑战。对于我们将要重点讨论的伙伴关系而言，细菌对它们的动物宿主的发育至关重要，传递的任务通常由垂直或水平传递来完成。

垂直传递 **垂直传递**（**vertical transmission**）指共生生物通过生殖细胞，通常是卵，从一代传递到下一代（Krueger et al. 1996）。

沃尔巴克氏属的细菌栖息在无脊椎动物的卵中，并且为这些卵将要产生的那些个体的发育提供重要信号。我们将会看到，很多物种的无脊椎动物将重要的发育信号"外包"给沃尔巴克氏属细菌，这些细菌像线粒体一样传递（也就是在卵的细胞质中）。在很多果蝇物种，沃尔巴克氏属细菌提供抵御病毒的抗性（Teixeira et al. 2008；Osborne et al. 2009）。Ferree 及其同事的研究（2005）显示，在果蝇的发育中，沃尔巴克氏属细菌利用宿主抚育细胞的微管系统和动力蛋白引擎从抚育细胞进入发育中的卵母细胞（图 25.12A）。换句话说，细菌与线粒体、核糖体及 *bicoid* 的 mRNA 一样，使用相同的细胞骨架途径（见第 9 章）。进入卵母细胞后，细菌便分布于每个细胞，变成内共生体。沃尔巴克氏属细菌似乎通过进入形成卵巢和卵母细胞的干细胞微环境来帮助它们的传播（Fast et al. 2011）。受沃尔巴克氏属细菌感染的雌性所产的卵比没有被感染的姊妹多 4 倍，从而进一步传播沃尔巴克氏属细菌。

(A)



(B)



图 25.12 沃尔巴克氏属细菌的垂直和水平传递。(A) 在果蝇中，沃尔巴克氏属细菌通过雌性生殖细胞进行垂直传递。原卵区的 15 个抚育细胞将蛋白质、RNA 和细胞器转运到最远端的卵母细胞。共生的细菌（红色染色）也通过微管被转运到卵母细胞。卵巢的细胞质被染为绿色，DNA 被染为蓝色。(B) 雄性和雌性鼠妇（*Armadillidium vulgare*）。遗传上是雄性的鼠妇（右侧）通过沃尔巴克氏属细菌的感染（即水平传递）能被转变成表型上产卵的雌性（左侧）(A 图来自 Ferree et al. 2005，由 H. M. Frydman 和 E. Wieschaus 提供；B 图由 D. McIntyre 提供)。

网络话题 25.5 **发育共生与寄生病** 一些胚胎与其他生物形成共生关系而获得保护和养分。形成这些关系的机制目前正在被阐明。在其他情况下，一个物种利用另一个物种的材料来支持自身的发育。吸血的蚊子就是那些寄生物的例子。

水平传递 沃尔巴克氏属细菌既能水平传递，也能垂直传递。对于**水平传递**（**horizontal transmission**），后生动物宿主在出生时不携带任何共生生物，但随后或被环境或被同种的其他成员感染。在球潮虫，如鼠妇（*Armadillidium vulgare*），遗传上是雄性的昆虫受沃尔巴克氏属细菌感染后被转变成雌性（图 25.12B）。与雌性一样，球潮虫然后能将沃尔巴克氏属细菌共生生物传递到下一代（Cordaux et al. 2004）。

一种不同类型的水平传递涉及吸引光合藻类的水生动物卵。例如，两栖类和蜗牛产的卵挤在一起形成紧密的卵团。供氧量限制它们的发育速度，从卵团的外部到内部有一个显著的氧气梯度；因此，卵团内部的胚胎比卵团表面的胚胎更为缓慢地发育（Strathmann and Strathmann 1995）。胚胎似乎能从池水中获取光合藻类，为自己涂上一层薄膜来解决这个问题。在两栖类和蜗牛的卵团中，来自这种藻类"污垢"的光合作用在光下能产生净氧，而黑暗时的呼吸超过光合作用（Bachmann et al. 1986；Pinder and Friet 1994；Cohen and Strathmann 1996）。这样，共生的藻类通过它们的光合作用而"拯救"卵。

水平传递对很多动物（包括人类）的共生性肠道细菌至关重要。我们将在本章的后面描述哺乳动物的肠道细菌对肠血管的形成有关键作用，它们很可能参与调节干细胞的增殖（Pull et al. 2005；Liu et al. 2010）。人类婴儿通常在他们经过产道时获取这些共生生物。一旦羊膜破裂，母体生殖道中的微生物区系就能群居于婴儿的皮肤和肠道。这进一步被来自父母皮肤的共生微生物所补充，尤其是哺乳期间母亲的皮肤。细菌在婴儿体内的群居是一个至关重要的事件，哺乳动物的免疫系统似乎鼓励某些细菌进入体内，而不欢迎其他细菌（见 Gilbert et al. 2012）。的确，人的母乳中有一些复糖不能被婴儿消化。然而，它们可以作为某些帮助婴儿身体发育的共生细菌的食物（Zivkovic et al. 2011）。尽管每个婴儿最初具有一个独特的细菌分布，但在一年内细菌的类型和比例已经接近具有人类消化道特征的成人的细菌分布。

25.3.2　鱿鱼与弧菌的共生

水平传递在一个研究最多的发育共生例子中起重要作用，这就是鱿鱼（*Euprymna scolopes*）和发光细菌（*Vibrio fischeri*）之间的共生关系（McFall-Ngai and Ruby 1991；Montgomery and McFall-Ngai 1995）。成体的鱿鱼具有一个光器官，由充满这些细菌的囊组成（**图 25.13A**）。但是，新孵化的鱿鱼并不具有发光的共生生物，也没有容纳这些细菌的光器官。然而，共生细菌与鱿鱼幼体相互作用以共同建造光器官。幼态的鱿鱼将海水泵过外套腔时获得弧菌（Nyholm et al. 2000）。这些细菌结合这个腔的纤毛上皮；而上皮只结合弧菌，却让其他细菌通过（**图 25.13B**）。然后，弧菌在上皮中诱导数百个基因的表达，导致上皮细胞的凋亡性死亡、纤毛上皮被非纤毛上皮取代、周围的细胞分化成细菌的储存囊，以及光器官中编码视蛋白和其他视觉蛋白的基因的表达（**图 25.13C**；Chun et al. 2008；McFall-Ngai 2008b；Tong et al. 2009）。

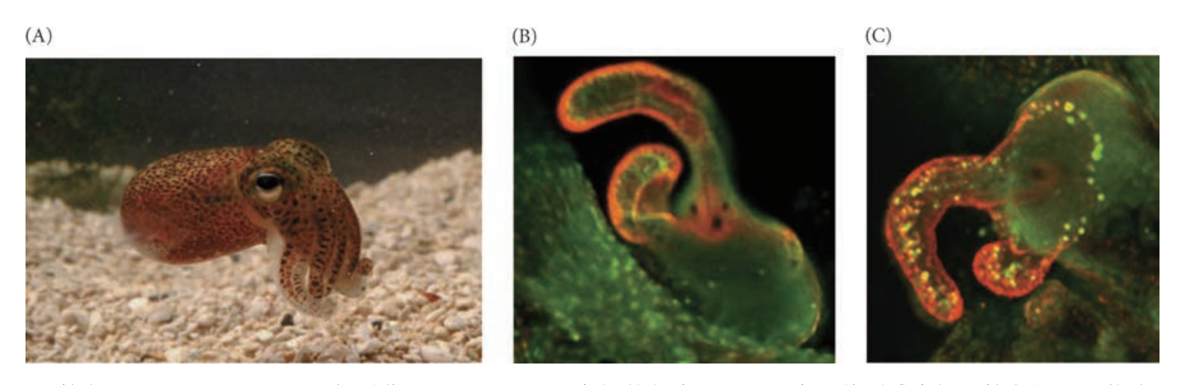


图 25.13　鱿鱼（*Euprymna scolopes*）与弧菌（*Vibrio fischeri*）之间的共生。(A) 一个成体夏威夷短尾鱿鱼长约 2 英寸（1 英寸相当于 2.54 cm）。共生生物被容纳在鱿鱼下侧一个两叶的光器官。(B) 幼态鱿鱼的光器官等待接受弧菌。纤毛摆动产生的水流和黏液分泌物为将海水中革兰氏阴性菌（包括弧菌）吸引到光器官建立一种环境（扩散的黄色染色）。随时间的推移，除了弧菌以外的所有细菌被仍然未知的机制所清除。(C) 一旦弧菌在光器官的隐窝内建立，它们诱导上皮细胞的凋亡（黄色点状物），停止黏液的分泌（由 M. McFall-Ngai 提供）。

影响这些变化的弧菌分泌物其实是细菌的细胞壁片段，其中的活性物是气管细胞毒素和脂多糖（Koropatnick et al. 2004）。这个发现很令人惊讶，因为已知这两个物质能引起炎症和疾病，威胁宿主的生存（因此细菌的生存）。的确，气管细胞毒素在百日咳和淋病双球菌感染中导致组织损伤。呼吸管和输卵管中纤毛上皮的破坏及取代也是这些细菌化合物引起的。细菌在宿主中诱导形态变化后，宿主便将一个中和细菌毒素的肽分泌到含有弧菌的上皮隐窝（Troll et al. 2010）。两种生物体都改变了它们的基因表达图式，并且两者都从这个联结中获益：细菌获得一个住处并表达它们的发光酶；鱿鱼发育出一个光器官，使它在夜间能在浅水区来无影去无踪地游动。

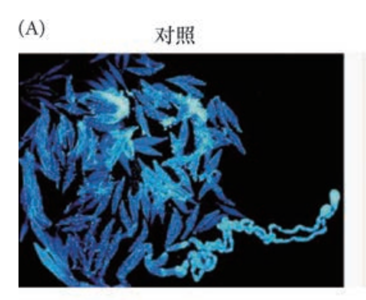
25.3.3　专性发育互利共生

参与**专性互利共生**（**obligate mutualism**）的物种互相依赖，以至于缺少任何一个物种，另一个物种便

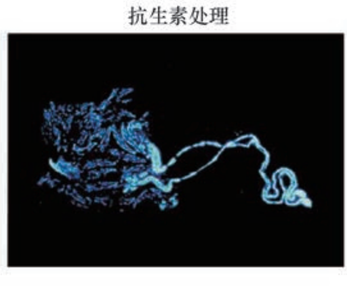
不能存活。专性互利共生中最典型的例子是地衣，其中真菌和藻类物种之间的结合关系基本上产生了一个新的物种。目前越来越多的专性互利共生的例子正在被描述，其中大多数对医学和保护生物学都有重要的影响。

寄生蜂（*Asobara tabida*）是专性发育互利共生的一个例子。在这些昆虫中，共生细菌存在于卵细胞质，并且通过雌性生殖质被垂直传递。沃尔巴克氏属细菌能使寄生蜂完成卵黄形成和卵成熟（Dedeine et al. 2001；Pannebakker et al. 2007）。如果将共生生物去除，卵巢就会经历凋亡而不能产卵（图 25.14）。另一个例子是马来丝虫（*Brugia malayi*）。在这里，沃尔巴克氏属细菌位于细胞有丝分裂纺锤体微管的后极。一旦处在后极，它们对调节细胞分裂有必不可少的作用，这在线虫早期发育中对建立前后边界至关重要。如果在第一次细胞分裂前将它们从卵中去除，这种细胞分裂就会发生异常，正常的前后极性便不能形成（Landmann et al. 2014）。毋庸置疑，这个发育中的生物体是一个全共生体。

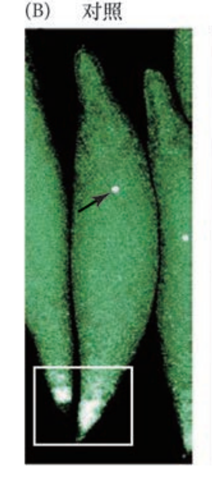
(A) 对照



抗生素处理



(B) 对照



抗生素处理

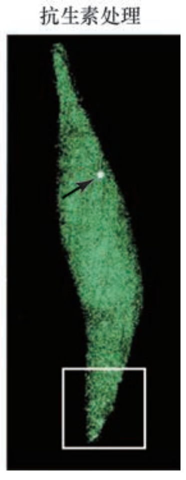


图 25.14 对照雌性和受抗生素利福平处理以去除沃尔巴克氏属细菌的雌性寄生蜂（*Asobara tabida*）的卵巢和卵母细胞的比较。(A) 对照雌性的卵巢平均有 228 个卵母细胞，而利福平处理的雌性的卵巢平均有 36 个卵母细胞。(B) 对卵母细胞的 DNA 染色显示，对照雌性的卵母细胞中有一个核（箭头所示），以及位于一端的一团沃尔巴克氏属细菌（方框）。利福平处理的雌性的卵母细胞有一个核，但没有沃尔巴克氏属细菌；这些卵不育（来自 Dedeine et al. 2001）。

在专性发育互利共生中，宿主的死亡导致共生生物的死亡。我们在第 24 章描述了阿特拉津，以及它诱导芳香酶和引起两栖类性别决定异常的作用。但是阿特拉津的主要用途和作用是除草；它是一种高效的非特异性除草剂。一旦使用，阿特拉津在土壤中的活性能维持 6 个月以上，并且能被风和雨水带到其他地方。很多两栖类和蜗牛物种的卵团依赖共生藻类为卵团内部的卵提供氧。例如，斑点蝾螈（*Ambystoma maculatum*）产的卵招募一种极其特异的绿藻共生生物，其名称是 *Oophilia amblystomatis*（“蝾螈卵的情人”）。这种藻类实际上储存在母体内，并且可能与卵储存在一起（Kerney et al. 2011）。阿特拉津浓度低至 50 μg/L 时就能从卵中彻底清除这种藻类，两栖类的孵化率就会显著降低（图 25.15；Gilbert 1944；Mills and Barnhart 1999；Olivier and Moon 2010）。



图 25.15 专性发育共生生物。位于卵团中央的斑点蝾螈（*Ambystoma maculatum*）的卵在它们的藻类共生生物被除草剂去除后，因为缺氧而不能存活（照片为 Gustav Verderber/OSF/Visuals Unlimited 版权所有）。

25.3.4　哺乳动物肠中的发育共生

即便是哺乳动物，也与细菌维持发育共生。利用聚合酶链反应和快速测序技术，研究人员最近在人的肠道中鉴别出很多厌氧菌种（见 Qin et al. 2010）。之前并没有认识到它们的存在，因为这些物种还不能在实验室进行培养。

这些研究揭示了细菌共生生物在我们体内的特殊分布。人类结肠的数百种细菌沿肠管的长度和直径分层成特定的区域，能达到 10^{11} 个细胞 /mL 的密度（Hooper et al. 1998；Xu and Gordon 2003）。的确，在我们的体内，一半以上的细胞是微生物。我们从来都不缺乏这些微生物成分；在羊膜破裂时我们就从母体的生殖道中接收了微生物。我们已经与微生物共同演化，与它们共享我们体内的空间，我们甚至与微生物共同发育以至于我们的细胞具有结合这些微生物的能力，并且这些细菌能在肠上皮细胞中诱导基因的表达（Bry et al. 1996；Hooper et al. 2001）。

细菌帮助肠道发育　细菌诱导的哺乳动物基因表达最先在小鼠肠道中被证明。Umesaki（1984）注意到，一种代表小鼠肠绒毛特征的特殊岩藻糖基转移酶能被细菌诱导。进一步的研究（Hooper et al. 2001）证明，无菌小鼠的肠道能够形成但不能完成分化。共生微生物对肠道的完全发育是必需的。正常存在的肠道细菌能上调多个小鼠基因的转录，包括：辅脂肪酶的基因，它对营养的吸收有重要作用；血管生成蛋白 -4 的基因，它帮助血管的形成；*Sprr2a* 基因，它编码一个小的富含脯氨酸的蛋白质，能加强肠道壁的细胞外基质（**图 25.16**；Hooper et al. 2001）。Stappenbeck 及其同事（2002）证明，缺失特定肠道微生物时，小肠绒毛的毛细血管不能发育成完整的血管网络（**图 25.17**）。在斑马鱼中，微生物通过经典 Wnt 信号途径调节肠干细胞的正常增殖。没有这些微生物，肠上皮仅有很少的细胞，并且缺少杯状细胞、肠内分泌细胞及特征性的肠刷状缘酶（**图 25.18**；Rawls et al. 2004，2006；Bates et al. 2006）。

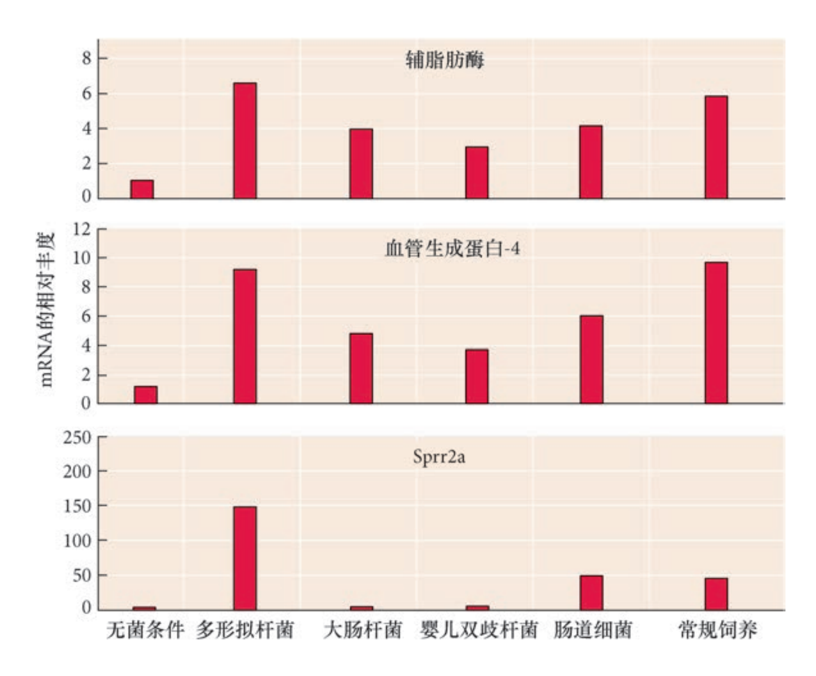
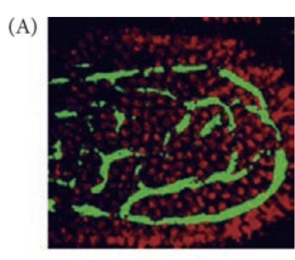
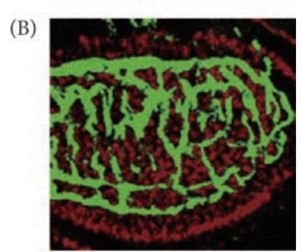


图 25.16　共生微生物对哺乳动物基因的诱导。饲养在无菌环境下的小鼠或被作为对照，或被接种一两种细菌。接种 10 天后提取出肠的 mRNA，用微阵列方法检测基因的表达。在无菌环境下饲养的小鼠中，编码辅脂肪酶、血管生成蛋白 -4 和 Sprr2a 的基因几乎没有表达。多种不同的细菌，包括多形拟杆菌（*Bacteroides thetaiotaomicron*）、大肠杆菌（*Escherichia coli*）、婴儿双歧杆菌（*Bifidobacterium infantis*），以及从常规饲养的小鼠中收集的各种肠道细菌，能诱导辅脂肪酶和血管生成蛋白 -4 基因的表达。在接种多形拟杆菌的小鼠中，*Sprr2a* 基因的表达量比无菌动物高 50 倍。如果没有聚合酶链反应和微阵列分析这些分子生物学技术，肠道微生物与宿主细胞之间的这种生态关系就不可能被发现（照片来自 Hooper et al. 2001）。

细菌帮助调节免疫和神经系统的发育　肠道微生物对**哺乳动物肠相关淋巴组织**（**mammalian gut-associated lymphoid tissue**，**GALT**）的成熟似乎也有关键作用。哺乳动物肠相关淋巴组织介导肠黏膜免疫和口服免疫耐受，使我们对食物不产生免疫应答（见 Rook and Stanford 1998；Cebra 1999；Steidler 2001）。将脆弱杆菌（*Bacillus fragilis*）或枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）单独接种到无菌兔的阑尾中不能有效地诱导哺乳动物肠相关淋巴组织的正常形成。但是，同时接种这两种常见的哺乳动物肠细菌可以有效地诱导哺乳动物肠相关淋巴组织（Rhee et al. 2004）。来自细菌的主要诱导物是细菌多糖 A，尤其是脆弱





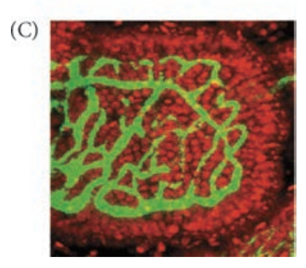


图 25.17 肠道微生物对哺乳动物毛细血管发育的必要性。无菌小鼠的毛细血管网络（绿色）(A) 与相同小鼠在接种正常肠道细菌 10 天后的毛细血管网络 (B) 相比严重减少。(C) 单独接种多形拟杆菌 (*Bacteroides thetaiotaomicron*) 足以使毛细血管正常形成（参考 Stappenbeck et al. 2002）。

杆菌基因组编码的细菌多糖 A。缺失细菌多糖 A 的脆弱杆菌突变体不能恢复无菌小鼠的正常免疫功能 (Mazmanian et al. 2005)。因此，一种细菌化合物对诱导宿主的免疫系统似乎有主要作用。在生命早期接触微生物能防止 T 淋巴细胞相关的超敏反应和炎症性肠疾病，同时它能增加辅助性 T 细胞的类型。与抵御超敏反应相关的 T 淋巴细胞能被某些细菌诱导 (Ohnmacht et al. 2015)，并且母乳中的一些糖能促进这些细菌的生长 (Ardeshir et al. 2014)。无菌小鼠有免疫缺陷综合征，只有在宿主特异性微生物存在时才能产生所有类型的 T 淋巴细胞 (Niess et al. 2008；Duan et al. 2010；Chung et al. 2012；Olszak et al. 2012)。所以，共生细菌对哺乳动物免疫系统的 T 淋巴细胞分化具有至关重要的作用。

尽管这听起来像科学幻想，但目前已有证据证明共生细菌刺激哺乳动物脑的出生后发育。与常规饲养的小鼠相比，无菌小鼠脑中的相关区域表达低水平的早期生长应答因子 -1 和脑源性神经营养因子，但表达高水平的神经激素 5- 羟色胺（图 25.19；Diaz Heijtz et al. 2011；Clarke et al. 2013)。这与两组小鼠之间的行为差异相关，Diaz Heijtz 及其同事 (2011) 认为，“在进化过程中，肠微生物区系的定居已经整合到脑发育的编程，影响运动控制和情绪行为”。另有研究报道，一种特殊的乳酸菌种 (*Lactobacillus*) 通过迷走神经依赖性 γ-氨基丁酸受体的调节帮助控制情绪行为 (Bravo et al. 2011)。因此，有可能存在细菌产物进入血液并帮助调节脑发育的途径 (Grenham et al. 2011；McLean et al. 2012)。

肠细菌在人类妊娠过程中出现显著变化。的确，它们似乎能应答激素变化，帮助孕妇适应怀胎的生理压力。如果将来自妊娠早期的妇女的细菌转移到无菌小鼠，这些细菌不会引起宿主的表型变化。如果将来自妊娠后期的妇女的细菌转移到无菌小鼠，小鼠就会变胖并表现出与孕妇相关的代谢变化，如胰岛素脱敏（图 25.20；Koren et al. 2012)。

总之，哺乳动物与细菌共演化，以至于没有细菌，我们的身体表型就不能完全发育。我们的肠细菌群体可被视为一个“器官”，为我们提供我们自身没有演化出来的功能（如加工植物多糖的能力）。而且，与我们发育中的器官一样，微生物诱导邻近组织的变化。Mazmanian 及其同事 (2005) 认为，“这

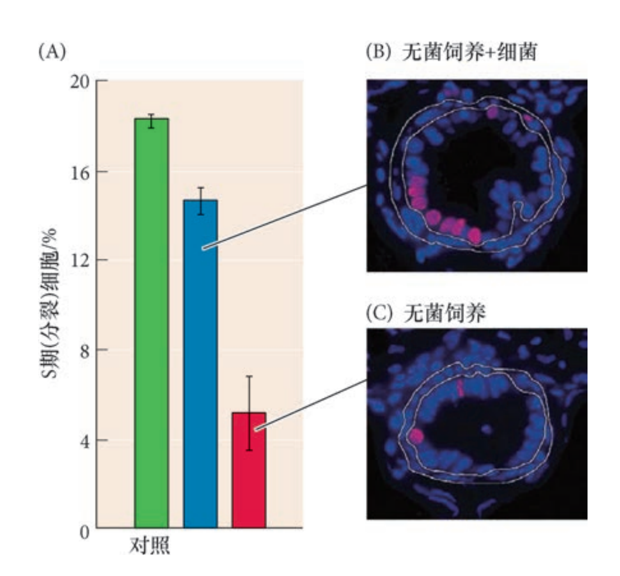


图 25.18 细菌刺激斑马鱼肠道的干细胞分裂和细胞分化。(A) 在常规饲养（对照）、无菌饲养、添加细菌样品的无菌饲养样品中，S 期（分裂）肠上皮细胞的量化。(B) 接受细菌样品的无菌斑马鱼在 6 天后呈现正常的干细胞分裂和上皮细胞分化。在这个图和 (C) 图中不分裂的细胞被染成蓝色，分裂的细胞被染成紫红色。内部的细胞是肠上皮；白色轮廓中的细胞是间充质和肌细胞。(C) 无菌斑马鱼的肠较小，而且只有少数正在分裂的干细胞（参考 Rawls et al. 2004）。

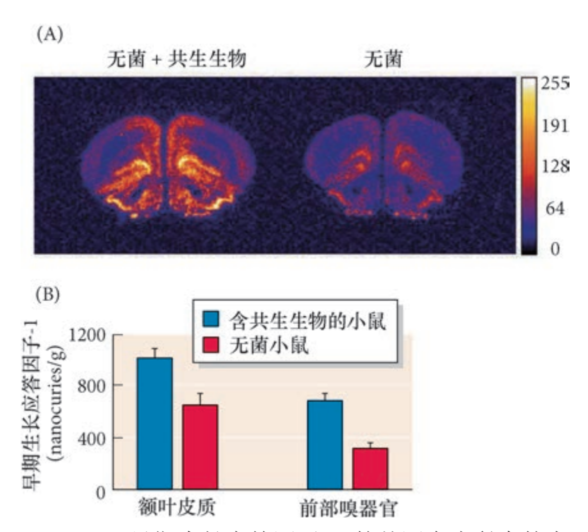


图 25.19 早期生长应答因子 -1 的基因在小鼠中的表达取决于共生微生物。(A) 早期生长应答因子 -1 的 mRNA 在脑额叶皮质切片中的原位杂交，显示具有常规微生物的小鼠比无菌小鼠表达更高水平的早期生长应答因子 -1。(B) 用放射性探针定量显示，具有共生生物的小鼠额叶皮质和嗅前部比无菌小鼠表达更高水平的早期生长应答因子 -1（参考 Diaz Heijtz et al. 2011）。

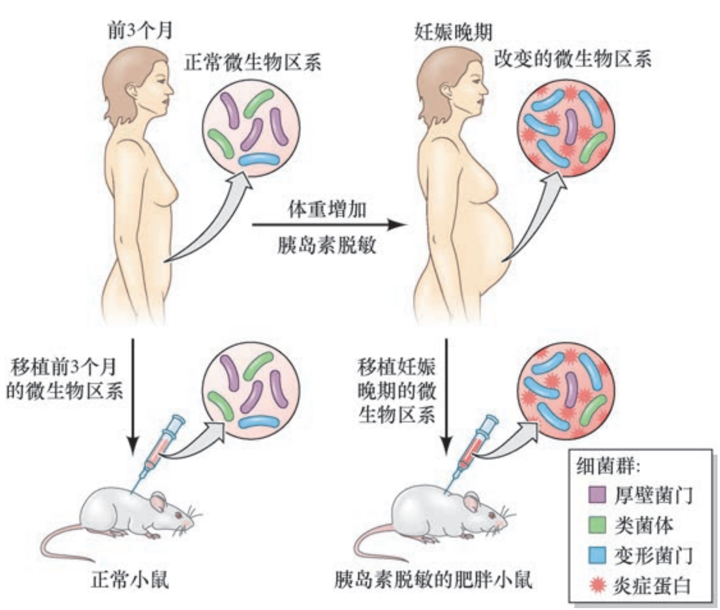


图 25.20 孕妇的肠微生物群体的组成在妊娠期间发生显著变化。这与体重增加和代表人类妊娠特征的胰岛素逐渐脱敏相关。来自妊娠早期的妇女（前 3 个月，大致是第 1 ～ 12 周）的细菌被移植到无菌小鼠的肠时对小鼠的表型没有影响。如果细菌来自妊娠后期（妊娠末 3 个月，大致是第 27 ～ 40 周），它们能诱导小鼠产生类似于孕妇的表型，包括体重增加和胰岛素抗性（参考 Koren et al. 2012）。

种关系令人印象最深刻的特征可能是宿主为了自身的发育和健康，不但容许而且已经演化到需要共生微生物的定居”。

> **拓展性问题**
>
> *鉴于哺乳动物需要微生物来帮助构建它们的肠道和免疫系统，有没有证据显示以剖宫产术（手术剖腹产；不经过产道）出生的儿童具有不同的肠道微生物，可能会比非手术出生的儿童更易患某些疾病？*

结束语

表型不仅仅是物种遗传下来的基因组的表达。确切地说，一个生物体的基因型与环境之间存在相互作用，进而从遗传控制的所有可能表型中引发出一种特定的表型。环境因素，如温度、饮食、物理压力、捕食者的存在及拥挤现象，能产生一种适宜于特定环境的表型。因此，环境除了具有已经被公认的表型选择作用以外，还被认为具有产生一种表型的作用。我们与其他生物共同发育这个事实是发育生物学和进化生物学的一个重要概念。这可能对医学非常重要，尤其是如果脑的发育会受到细菌的影响。的确，目前正在进行的研究涉及细菌是否能引起孤独症谱系障碍（见 Gonzalez et al. 2011）。

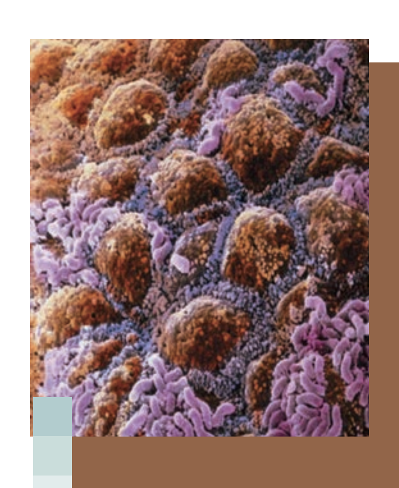
生态发育生物学正在为基因型与环境的相互作用提供分子基础，这个领域使进化生物学家越来越感兴趣（Schlichting and Pigliucci 1998）。不同的基因组在应答相同的环境变化时以不同的方式改变它们的表达图式。粪甲虫幼体对保幼激素变化的敏感性、海龟性别特化变化的阈值，以及其他众多针对环境的发育应答都是可选择的表型（见 Moczek and Nijhout 2002；McGaugh and Janzen 2011；Moczek et al. 2011）。环境诱导的发育途径中的基因正在被鉴别出来（Matsumoto and Crews 2012；Snell-Rood and Moczek 2012），这使我们可以为基因组与环境的相互作用提出分子机制。

生态发育生物学也对自主和独立发育的概念提出了质疑。并且，如果我们不是真正的“个体”，而只具有基于群体互作的一种表型，那么自然选择到底在选择什么？自然选择是否能选择团体或相互关系？

发育可塑性和发育共生对其他生物学的影响正开始受到重视（见 Bateson and Gluckman 2011；Gilbert et al. 2012；McFall-Ngai et al. 2013；Gilbert and Epel 2015）。

下一步的研究

基因组通过改变生物体的发育轨迹来应答外界环境的能力打开了整个研究世界的大门。进化是否选择生物体组成的“团队”？微生物是否参与正常的脑发育？环境诱导的染色质变化从一代传递到下一代的频率是怎样的？行为性状是否能够传递？微生物利用什么信号影响发育过程中的正常信号？生态发育生物学的研究领域正在关注这些问题。





开篇图的思考

“尊重你的共生生物”，Jian Xu 和 Jeffrey Gordon（2003）曾提出这样的告诫。在 25 年前，很少有人能想象到人类的正常发育取决于多个物种之间的相互作用。但现在看来，出生后前几天获得的微生物群体不仅对正常发育至关重要，对我们成体的生理也有关键作用。人们在工业化世界接触较少的细菌和细菌类型，这就使人担忧我们也许缺少一些对健康发育所需的细菌（人结肠中共生细菌棒的电脑加色扫描电镜图片；P. M. Motta and F. Carpino/Univ.“La Sapienza”/Science Source 版权所有）。

25 要点总结

发育和自然环境

1. 环境在正常发育过程中有关键作用。环境因素包括温度、饮食、聚集现象和捕食者的存在。
2. 发育可塑性使环境影响能从相同的基因型中引发不同的表型。基因组编码一系列可能的表型。通常是环境选择那些将要表达出来的表型。
3. 反应规范是量性应答环境条件的表型，以至于表型反映出环境条件的微小变化。
4. 非遗传多型性代表“非此即彼”的表型；也就是说，一组条件引发一种表型，而另一组条件引发另一种表型。
5. 季节性信息，如光期、温度或食物类型，能改变发育，使生物体更适应它所遇到的条件。温度变化也参与一些生物的性别决定，包括爬行类和鱼类。
6. 反捕食多型性经历了演变，以至于猎物物种能通过形态变化来应答特定捕食者的存在。在某些情况下，这种诱导的适应性可以传递到猎物的子代。
7. 环境能通过多种方式影响基因的表达。环境因素能差异性地使基因甲基化；它们能在周围的细胞中诱导基因表达；它们能被神经系统检测，使神经系统产生影响基因表达的激素。
8. 行为表型也能被环境诱导。脑在出生后的成熟过程中接触的环境因素能改变 DNA 的甲基化图式，从而改变激素的接收和行为。
9. 生物体通常与共生生物体一起发育，来自共生生物的信号对正常发育有关键作用。

10. 共生生物可以获自水平方式（通过感染）或垂直方式（通过卵母细胞）。

11. 在专性互利共生中，两个伙伴对各自的生存是必需的；在专性发育互利共生中，至少一个伙伴对另一个伙伴的正常发育是必需的。

12. 哺乳动物的肠道含有活跃调节肠基因表达的共生生物，以产生作为肠发育和功能正常生理组分的蛋白质。缺少这些共生生物，一些哺乳动物物种的肠血管和肠相关淋巴组织不能正常形成。

13. 共生生物在宿主中诱导正常的基因表达；缺少这些共生生物诱导的基因表达图式，宿主的表型会产生缺陷。一些免疫细胞、肠细胞和神经细胞的分化取决于共生生物诱导的基因表达。

14. 在脊椎动物，肠道共生生物对肠道、免疫系统，甚至是部分神经系统的发育可能有重要作用。

拓展阅读

Agrawal, A. A., C. Laforsch and R. Tollrian. 1999. Transgenerational induction of defenses in animals and plants. *Nature* 401: 60–63.

Brakefield, P. M. and N. Reitsma. 1991. Phenotypic plasticity, seasonal climate, and the population biology of *Bicyclus* butterflies (Satyridae) in Malawi. *Ecol. Entomol.* 16: 291–303.

Caldji, C., I. C. Hellstrom, T. Y. Zhang, J. Diorio and M. J. Meaney. 2011. Environmental regulation of the neural epigenome. *FEBS Lett.* 585: 2049–2058.

Gilbert, S. F. and D. Epel. 2015. *Ecological Developmental Biology: Integrating Epigenetics, Medicine, and Evolution*, 2nd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Gilbert, S. F., T. C. Bosch and C. Ledón-Rettig. 2015. Eco-Evo Devo: Developmental symbiosis and developmental plasticity as evolutionary agents. *Nature Rev. Genet.* 16: 611–622.

Hooper, L. V., M. H. Wong, A. Thelin, L. Hansson, P. G. Falk and J. I. Gordon. 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 291: 881–884.

McFall-Ngai, M. J. 2002. Unseen forces: The influence of bacteria on animal development. *Dev. Biol.* 242: 1–14.

McFall-Ngai, M. J. 2014. The importance of microbes in animal development: Lessons from the squid-*Vibrio* symbiosis. *Annu. Rev. Microbiol.* 68: 177–194.

Moczek, A. P. 2005. The evolution of development of novel traits, or how beetles got their horns. *BioScience* 55: 937–951.

Relyea, R. A. and N. Mills. 2001. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to grey treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2491–2496.

Stappenbeck, T. S., L. V. Hooper and J. I. Gordon. 2002. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 15451–15455.

Waterland, R. A. and R. L. Jirtle. 2003. Transposable elements: Targets for early nutritional effects of epigenetic gene regulation. *Mol. Cell. Biol.* 23: 5293–5300.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

第 26 章

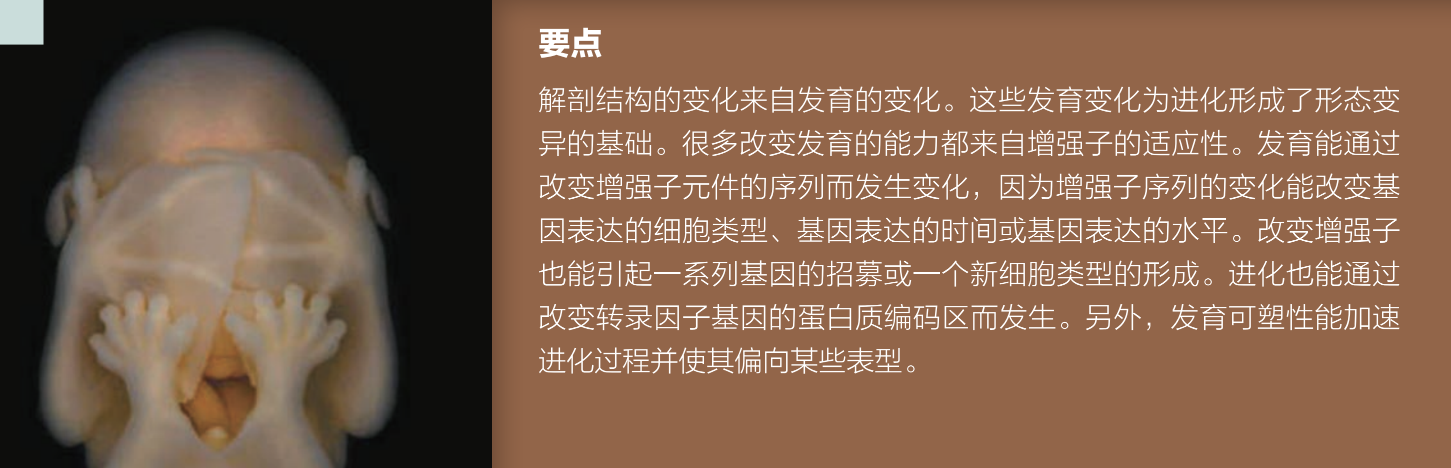
发育与进化

进化的发育机制

一个不飞行的哺乳动物演化成蝙蝠可能需要什么样的发育变化？

在写《物种起源》时，达尔文针对变异起源这个问题请教了他的朋友托马斯·赫胥黎（Thomas Huxley）。赫胥黎在回答达尔文的问题时注意到，生物之间的很多差异都可以追溯到它们在发育中的差异，而这些差异“并不是来自新部分的发育，而是来自两种不同类型中已有且是共同部分的变化”（Huxley 1857）。

赫胥黎的回复表达了**演化发育生物学**（**evolutionary developmental biology**）的一个主要原则，这是一个比较新的科学，将进化视为发育变化的结果。如果发育是基因表达和细胞位置随时间推移而产生的变化，那么进化则是发育随时间推移而发生的变化。这个新的领域，通俗地称为**演化发育**（**evo-devo**），正在形成一个新的进化模型，将发育生物学、古生物学和群体遗传学整合在一起，以解释和确定生命的多样性（Raff 1996；Hall 1999；Arthur 2004；Carroll et al. 2005；Kirschner and Gerhart 2005）。换句话说，演化发育生物学通过发育的因素将遗传学与进化联系起来。托马斯·赫胥黎的孙子朱利安·赫胥黎在 1942 年观



要点

解剖结构的变化来自发育的变化。这些发育变化为进化形成了形态变异的基础。很多改变发育的能力都来自增强子的适应性。发育能通过改变增强子元件的序列而发生变化，因为增强子序列的变化能改变基因表达的细胞类型、基因表达的时间或基因表达的水平。改变增强子也能引起一系列基因的招募或一个新细胞类型的形成。进化也能通过改变转录因子基因的蛋白质编码区而发生。另外，发育可塑性能加速进化过程并使其偏向某些表型。

察到，“研究基因在发育过程中的作用对理解进化和对突变研究及选择研究都同等重要”。现代演化发育生物学正在分析发育变化如何建立自然选择能够施加作用的各种变异。与其去关注“适者生存”，演化发育生物学为我们提供的关于“适者诞生”的新认知（Carroll et al. 2005；Gilbert and Epel 2015）。

26.1 渐变演替：为什么动物既相同也不同

在 19 世纪，关于物种起源的争论致使两种自然观互相对立。一种是 Georges Cuvier 和 Charles Bell 主导的观点，强调物种之间的差异使它们适应于各自的环境。他们认为，人的手、海豹的鳍肢，以及鸟和蝙蝠的翼都是一些神奇的创造物，由造物主塑造出来以适应它们的“生存条件”。另一种是 Étienne Geoffroy Saint-Hilaire 和 Richard Owen 主导的观点，认为“类型的统一”（生物之间的相似性，Owen 称之为“同源性”）最为关键。Owen 说，人的手、海豹的鳍肢，以及鸟和蝙蝠的翼都是相同基本构型的变化（见图 1.18）。如果发现那种构型，我们就能找到造物主在设计这些动物时所采用的形式。适应只是次要的。

达尔文对这些早期的辩论给予了肯定，他在 1859 年写道，“人们普遍认可一切有机生物的形成都是基于两大法则，即类型的统一和生存的条件”。达尔文进一步说明他的理论可以通过源于一个共同祖先来解释类型的统一，而对生存条件的适应可以通过自然选择予以解释。达尔文将这个概念称为**渐变演替**（**descent with modification**）。他注意到，不同门的胚胎和幼体之间的同源性为渐变演替提供了很好的证据。他异常兴奋地看到藤壶幼体的解剖结构证明它们是甲壳动物，并且也因为 Kowalevsky 证明了被囊动物幼体既有脊索也有咽囊（1871）而感到特别高兴。这说明被囊动物属于脊索动物，从而将无脊椎动物与脊椎动物统一到一个连贯的动物界。在 19 世纪后期，发育的变化被认为是进化的动力（Gould 1977）。或者，像赫胥黎很恰当地做出的评论，“进化不是一种猜测而是一个事实；并且这通过后成说而发生”（Huxley 1893，第 202 页）。

网络话题 26.1 **19 世纪孕育了进化与发育的关联** 在《物种起源》出版后，人们就立即试图将进化与发育的变化联系起来。这个话题突出了三个科学家（Frank Lillie、Edmund B. Wilson 和 Ernst Haeckel）的努力，以进一步阐明进化与发育的关系。

26.2 进化的前提：基因组的发育结构

如果自然选择只对已有的变型产生作用，那么所有的变异是从哪里来的？如果像达尔文（1868）和赫胥黎推断的那样，变异来自发育的变化，那么在发育受到如此精细调节又是如此复杂的情况下，一个胚胎的发育是怎样变化的？如何在不破坏整个生物体的情况下产生这样的变化？[1]。即使在人们理解了蛋白质合成的分子生物学以后，这个问题仍然存在。如果一个编码蛋白质的基因发生突变，异常的蛋白质将会出现在这个蛋白质正常表达的所有位置。因此，一种突变无法使蛋白质表达在一个位置而不表达在另外一个位置。这个问题一直是个谜，直到演化发育生物学家证明了显著的形态变化可能出现在发育过程中，因为所有多细胞生物的发育都受控于以下两个条件：**模块化**（**modularity**）和**分子简约性**（**molecular parsimony**）。

发育辅导课 演化发育 **Scott Gilbert 在两个讲座中概述演化发育生物学的基本原则。**

[1] 与达尔文同时代的德国学者恩斯特·海克尔（Ernst Haeckel）提出，多数生物通过在胚胎发育的末期增加一个步骤而演变。但因为这个规则有太多的例外，所以被人抛弃。与达尔文同时代的两个英国学者 Herbert Spencer 和 Robert Chambers，也将发育视为进化的动力；他们把冯·贝尔法则（见第 1 章）作为其中的机制（见 Gould 1977；Friedman and Diggle 2011）。

26.2.1　模块化：分离产生差异

我们现在知道，即便是发育的早期也能予以改变而产生进化上的新特征。这些变化之所以能够发生，是因为发育通过一系列离散和相互作用的模块而进行（Riedl 1978；Bonner 1988；Kuratani 2009）。发育模块的例子包括形态发生场（如心脏、肢和眼的形态发生场）、信号转导途径（如 Wnt 和骨形态发生蛋白级联）、成虫盘、细胞谱系（如内细胞团和滋养层细胞）、昆虫的副体节和脊椎动物的器官原基（Gilbert et al. 1996；Raff 1996；Wagner 1996；Schlosser and Wagner 2004）。一个模块与其他模块具有不同发育能力的现象有时被称为**分离**（**dissociation**），这为早期实验胚胎学家所共知。例如，Victor Twitty 将一个大蝾螈的早期幼体肢芽移植到一个小蝾螈幼体的躯干部分，这个肢芽在小蝾螈幼体上发育成它的正常大小，说明肢场模块独立于胚胎整体的生长图式化（Twitty and Schwind 1931；Twitty and Elliott 1934）。眼场也具有同样的独立性。模块单元使身体的某些部分发生变化而不干扰其他部分的功能。

演化发育生物学的最重要发现之一是不仅解剖单元具有模块性（以至于身体的一个部分能以不同于其他部分的方式进行发育），基因上的增强子的 DNA 区域也具有模块性。这种遗传模块化，也就是说每个基因可能会有多个增强子，而每个增强子可能会有多个转录因子的结合位点，在图 3.11 中已经予以说明。增强子元件的模块化使得一些特定的基因同时被激活，并能使一个特定的基因表达在多个离散的位置。因此，如果通过突变使一个特定的基因丢失或获得一个模块性增强子元件，携带这种特殊等位基因的生物与保持初始等位基因的生物相比，将会在不同的位置或不同的时间表达该基因。这种可突变性能导致不同解剖形态和生理形态的发育（Sucena and Stern 2000；Shapiro et al. 2004），并且重要的形态变化能通过 DNA 调控区域上的突变而发生。因此，增强子序列的模块化对提供选择性变异有关键的作用。的确，影响增强子序列的突变现在被认为是引起动物群体之间形态差异的重要原因（Carroll 2008；Stern and Orgogozo 2008）。

Pitx1 与刺鱼的进化　增强子模块化的重要性已经通过分析三刺鱼（*Gasterosteus aculeatus*）的进化被明确地证实。淡水三刺鱼大约在 12 000 年前由海洋三刺鱼演化而来，那时的海洋群体定居在最后一个冰河时代新形成的淡水湖。海洋三刺鱼（**图 26.1A**）具有防御捕食的骨盆棘，能刮伤企图吞食它们的天敌鱼。的确，这种鱼的科学名称可以被翻译为“骨腹，带刺”。淡水三刺鱼不具有骨盆棘（**图 26.1B**）。这可能是因为它们没有像海洋三刺鱼所面临的捕食性鱼类，但它们必须面对很容易抓住这些刺的无脊椎动物天敌。因此，无刺的骨盆在这个物种的淡水种群被选择出来。

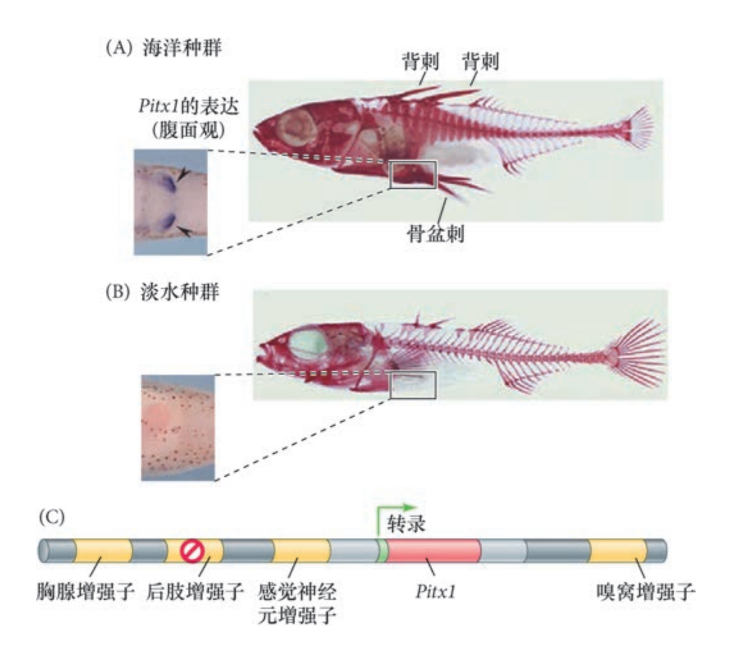


图 26.1　发育的模块化：增强子。*Pitx1* 基因的表达在三刺鱼（*Gasterosteus aculeatus*）淡水种群的骨盆区域缺失。骨板和骨盆刺是海洋种群的特征（A）。在淡水种群（B），骨盆刺及大部分骨甲缺失。在放大的胚胎腹面观（插图照片），原位杂交显示 *Pitx1*（紫色）表达在三刺鱼海洋种群的骨盆区域（以及感觉神经元、胸腺细胞和鼻部）。三刺鱼淡水种群的骨盆区域没有 *Pitx1* 基因的表达，尽管它仍在其他区域表达。箭头指示 *Pitx1* 基因表达在海洋种群形成骨盆刺的腹部区域。（C）骨盆刺丢失的进化模型。邻近 *Pitx1* 基因的编码区域可能存在 4 个增强子。这些增强子分别控制 *Pitx1* 基因在胸腺、骨盆刺、感觉神经元和嗅窝的表达。在三刺鱼的淡水种群，骨盆刺（后肢）增强子模块发生突变，*Pitx1* 基因在那个位置不能发挥功能（参考 Shapiro et al. 2004；照片由 D. M. Kingsley 提供）。

为了确定哪些基因可能参与这些骨盆差异，研究人员将来自海洋（带刺的）和淡水（无刺的）三刺鱼种群的个体进行交配。由此产生的后代通过互相繁殖而产生了大量的子代，其中一部分具有骨盆刺，而另一部分没有骨盆刺。使用分子标记物来鉴定亲本染色体的特定区域，Shapiro 及其同事（2004）发现，骨盆刺发育的关键基因位于 7 号染色体的远端。这意味着，几乎所有具有骨盆刺的鱼从海洋亲本继承了一个“骨盆附属物编码”的染色体区域，而没有骨盆刺的鱼继承了来自淡水亲本的相同区域。然后，研究人员检测了很多候选基因（也就是说，已知在小鼠骨盆和后肢的结构具有活性的基因），他们发现编码 Pitx1 转录因子的基因位于 7 号染色体的这个区域。

Shapiro 及其同事在比较海洋和淡水三刺鱼 Pitx1 蛋白的氨基酸序列时没有发现任何差异。但是，当他们比较 *Pitx1* 基因的表达图式时却发现了至关重要的差别。在两个种群中，*Pitx1* 基因都表达在胸腺、鼻部和感觉神经元的前体。在海洋种群中，*Pitx1* 基因还表达在骨盆区域。但在淡水种群中，*Pitx1* 基因在骨盆区域的表达缺失或显著降低（**图 26.1C**）。因为 *Pitx1* 基因的编码序列没有发生突变（也是因为引起骨盆刺差异的基因定位于 *Pitx1* 基因的位置，以及淡水和海洋三刺鱼种群的差异与这个基因在特定位置的表达有关），这就有理由认为使 *Pitx1* 基因表达在骨盆区域的增强子区域（即骨盆刺增强子）在淡水三刺鱼种群中不发挥功能。

在用高分辨遗传定位的方法显示 *Pitx1* 的“后肢”增强子 DNA 在有骨盆刺与无骨盆刺三刺鱼之间存在差异后，上述结论就被进一步证实[2]（Chan et al. 2010）。如果将海洋（带刺的）三刺鱼中 2500 个碱基的增强子 DNA 片段与绿色荧光蛋白基因融合后插入到淡水三刺鱼的受精卵，绿色荧光蛋白就会在骨盆表达。而且，如果将同样的片段与淡水三刺鱼（骨盆刺缺陷型）的 *Pitx1* 基因编码序列融合并注射到骨盆刺缺陷型三刺鱼的受精卵，淡水三刺鱼就会形成骨盆刺。

招募　模块化能将整套特征招募（或“共同选择”）至新的位置。在第 10 章，我们讨论了骨骼形成基因（成骨骼“子程序”）被招募到海胆小卵裂球的发育体系。在多数棘皮动物种群，成骨骼基因只在成体时被激活，用于形成坚硬的外骨骼板。但是，在海胆（而不是在任何其他棘皮动物种群），这套基因受控于小分裂球的双负阀，因为其中一个基因的增强子发生了变化。因此，骨骼通过幼体的间充质细胞形成（Gao and Davidson 2008）。

另一个招募的例子见于昆虫，表现在确定甲虫的翅结构。甲虫是地球上最成功的动物种群，占现有动物物种的 20% 以上（Hunt et al. 2007）。它们因为形成一个翅鞘而不同于其他昆虫，翅鞘是被硬的外骨骼所包裹的前翅。这使甲虫成为博物学家喜爱的“活珠宝”[3]（**图 26.2**）。在甲虫，像果蝇一样，无翅基因（*Apterous*）表达在翅成虫盘的背部区室，并且无翅转录因子使这个组织分化成背部的翅结构。但是在甲虫（而不在任何其他已知的昆虫），无翅蛋白也在前翅激活一些外骨骼基因，同时在后翅抑制这些基因的表达（Tomoyasu et al. 2009）。因此，一个新类型的翅从一个模块（外骨骼发育的子程序）到另一个模块（背部前翅发育的子程序）的招募中产生出来。

网络话题 26.2　**关联性演变**　在很多情况下，模块必须共同演变。例如，上下颌必须互相恰到好处地吻合；如果一个部分发生变化，另一部分也必须改变。如果卵的精子结合蛋白发生变化，精子的卵结合蛋白也需要随之改变。这个网站关注进化过程中的关联性变化。

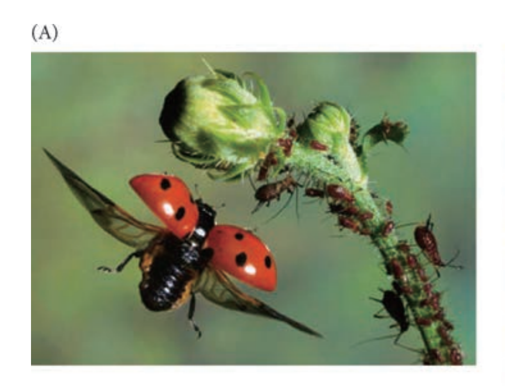
26.2.2　分子简约性：基因重复和差异

通过发育变化而产生宏观进化的第二个前提是分子简约性，有时称为“小工具盒”。换句话说，尽

[2] 有意思的是，在多个三刺鱼种群中骨盆刺的缺失似乎是 *Pitx1* 基因这个表达区域独立缺失的结果。这个发现说明，如果 *Pitx1* 基因在骨盆的表达缺失，这个性状很容易受到选择（Colosimo et al. 2004）。在这里我们看到群体遗传学与发育遗传学手段的结合有助于确定进化发生的机制。

[3] 达尔文和华莱士（Wallace）都热衷于收集甲虫，但遗传学家霍尔丹（J. B. S. Haldane）的评论最能反映出这些昆虫的突出之处。当一个牧师问起，对自然的研究能使我们对上帝有什么样的了解，据说霍尔丹是这样回答的：“上帝过于喜爱甲虫”。

(A)



(B)



图 26.2　翅鞘是变硬的前翅，代表鞘翅目甲虫的特征。翅鞘通过将外骨骼发育的遗传模块招募至前翅背部发育的模块而形成。(A)“瓢虫”甲虫的翅鞘。它的前翅上点缀有外骨骼，而后翅延长。(B) 牛津自然历史博物馆的“活珠宝”展示出甲虫翅鞘的多样性 (A 图为 F1online digitale Bildagentur GmbH/Alamy 版权所有；B 图为 Jochen Tack/Alamy 版权所有)。

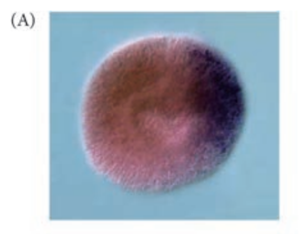
管发育在谱系之间存在巨大的差异，但在所有谱系中都使用相同类型的分子。转录因子、旁分泌因子、黏附分子及信号转导级联从一个门到另一个门都非常相似。的确，水母和扁虫的发育与果蝇和脊椎动物似乎都使用相同的一套重要转录因子和旁分泌因子 (Finnerty et al. 2004；Carroll et al. 2005；Putnam et al. 2007；Ryan et al. 2007；Hejnol et al. 2009)。

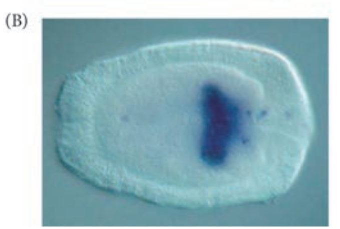
小工具盒　一些转录因子 (如骨形态发生蛋白、同源异形框和配对框家族中的转录因子) 在所有的动物门都存在。实际上，一些“工具盒基因”似乎在多种动物谱系中起相同的作用。骨形态发生蛋白的水平在整个动物界似乎都被用于特化背 - 腹轴 (图 26.3A)；Wnt 和同源异形基因在所有两侧对称动物中特化前 - 后轴 (图 26.3B)；无论是软体动物、昆虫，还是灵长类的眼，*Pax6* 基因都参与感光器官的特化 [4] (图 26.3C)。类似地，*Otx* 同源物在脊椎和无脊椎动物中特化头部的形成；尽管昆虫与脊椎动物的心脏存在很大差异，两者都受 *tinman*/*Nkx2-5* 的调控 (见 Erwin 1999)。一些微 RNA 似乎也表达在所有的动物，并且不管是在哪个动物门，它们都具有相同或类似的作用 (Christodoulou et al. 2010)，这包括 miRNA-124 (表达在原口和后口动物的神经系统)、miRNA-12 (在整个动物界都表达在肠道)、miRNA-92 (在后口和原口动物的幼体中特化纤毛运动细胞)。相同的转录因子和微 RNA 在整个动物界参与相同细胞类型的特化，这是原口动物和后口动物来自一个共同祖先的强有力证据，这个共同祖先使用同样的因子以类似的方式来特化它的器官 (Davidson and Erwin 2010)。

重复和趋异　对于旁分泌因子和转录因子的研究而呈现出的一个主题就是这些蛋白质 (以及编码这些蛋白质的基因) 以家族的形式出现。基因的家族是如何产生的？答案是初始基因的重复及初始副本随后的独立突变 (图 26.4)。这样就产生了与共同祖先相关的一个家族的基因 (并且这些基因通常仍然相邻)。这种**重复和趋异** (**duplication and divergence**) 的情况见于同源异形基因、珠蛋白基因、胶原蛋白基因、*Distal-less* 基因及很多旁分泌因子家族 (如 *Wnt* 基因)。这样一个基因家族的每个成员与其他成员都是同源的 (也就是说，它们的序列相似性是因为这些序列源于一个祖先而不是向一个特定功能集中的结果)，这样的成员被称为**旁系同源物** (**paralogue**)。Susumu Ohno (1970) 是基因家族概念的奠基者之一，他将基因重复比喻成一个逃脱监视的鬼祟罪犯。当自然选择的“警察机关”确认有一个正确行使功能的“好”基因时，那个基因的副本就会不受选择的限制，进行突变并行使新的功能。

这种“亚功能化”在很多基因家族中已经被证明，包括同源异形基因。同源异形基因是非常复杂且很重要的重复和趋异。我们会发现：①每个动物群都有相关的同源异形基因 (如果蝇的畸形、超级双胸、

[4] 这并不意味着眼是被 Pax6 唯一特化的组织，或者 Pax6 在不同动物门不受其他蛋白质调节 (Lynch and Wagner 2010)。





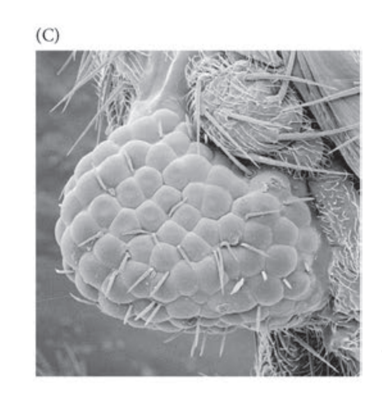


图 26.3 调节性基因进化保守的证据。(A) 脊椎动物的骨形态发生蛋白 -4 和果蝇的 *Decapentaplegic* 基因在刺胞动物中的同源物不对称地表达在海葵 (*Nematostella*) 胚胎的胚孔边缘。这个基因代表原口和后口动物中的祖先形式。(B) *Anthox6* 是同源异形基因第 1 旁系同源组在刺胞动物中的一个成员，表达在海葵幼体的胚孔一侧。(C) *Pax6* 基因对眼发育的作用是原口动物和后口动物具有共同祖先基因的一个例子。这个显微照片显示果蝇（原口动物）的腿上长出昆虫复眼的小眼，这是将小鼠（后口动物）*Pax6* 的 cDNA 表达在果蝇的腿成虫盘中而产生的 (A 图和 B 图来自 Finnerty et al. 2004，由 M. Martindale 提供；C 图来自 Halder et al. 1995，由 W. J. Gehring 和 G. Halder 提供)。

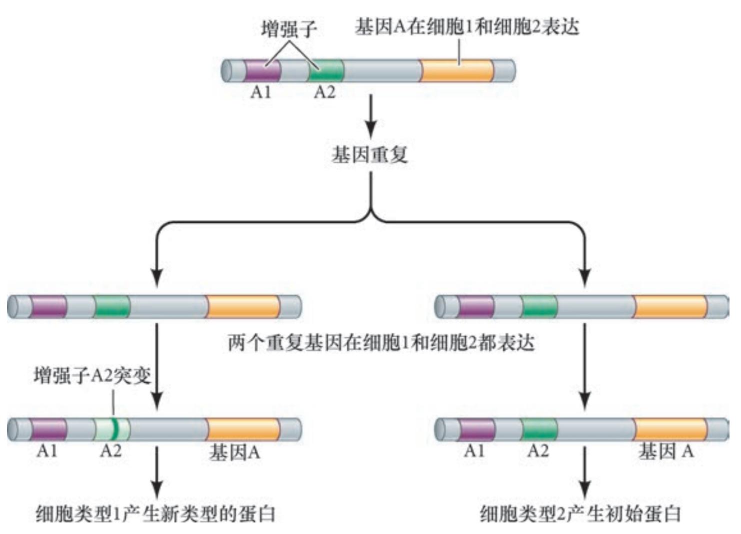


图 26.4 重复和趋异。表达在多种不同细胞类型的一个基因的重复可能会跟随着重复基因的突变。这导致初始基因功能的细化，使每个重复基因在不同的细胞类型表达。在这里描述的假设状态下，其中一个重复基因的增强子的突变在细胞类型 1 中产生一个新的基因表达图式和一个不同的功能性蛋白。

触角足基因，或哺乳动物的 39 个同源异形基因）；②脊椎动物有多个同源异形基因簇（例如，39 个哺乳动物同源异形基因成簇地分布在 4 个不同的染色体）。所有同源异形基因之间相似性的最佳解释是它们来自一个共同的祖先基因，很可能是一个单细胞原生动物或海绵。这就意味着果蝇的畸形、超级双胸和触角足基因都可能来自一个初始基因的重复。这三个基因的序列（尤其是在同源异形框区域）极为保守。这样的串联基因重复被认为是 DNA 复制错误的结果，而且这样的错误并非罕见。在复制之后，基因副本通过它们的编码序列和增强子区域的随机突变而发生变异，产生不同的表达图式和新的功能 (Lynch and Conery 2000；Damen 2002；Locascio et al. 2002)。

因此，果蝇的每个同源异形基因都有一个脊椎动物的同源物（有时会有多个）。在某些情况下，同源性很深并且也能在功能上体现出来。脊椎动物的 *Hoxb4* 基因不仅在序列上与果蝇的同源物畸形 (Deformed) 相似，人的 *HOXB4* 基因被导入畸形基因缺陷的果蝇胚胎时也能行使畸形的功能 (Malicki et al. 1992)。如第 12 章所述，昆虫和人的同源异形基因不仅是同源的，它们在各自的染色体上也以相同的顺序出现。它们的表达图式也非常相似：位于更 3′ 端的同源异形基因具有更前端的表达边界[5]（见图 12.23）。因此，这些基因在物种之间是同源的（与一个基因家族的成员在同物种内的同源性相反）。物种之间的同源基因称为**直系同源物 (orthologue)**。

人类进化中最重要的基因重复事件之一可能是 *SRGAP2* 基因的重复，它有可能导致了人类大脑皮质的扩张。这个基因编码的蛋白质表达在哺乳动物的脑皮质，似乎能减缓细胞分裂和降低树突的长度及密

[5] 同源异形基因的保守性及它们的共线性需要有一个解释。一种可能性 (Kmita et al. 2000, 2002) 是同源异形基因“竞争”一个以极性方式识别同源异形基因的远程增强子。这个增强子更有效地激活 5′ 端的同源异形基因。另一个解释 (Gaunt 2015) 认为空间共线性是作为物理性分隔基因的机制而演变出来的，从而避免转录激活的意外。

度。但是，与所有其他动物（包括黑猩猩）不同，人类的这个基因重复了两次。而且，第二次重复事件并不完全，以至于其中一个新产生的基因仅是一个不完整的副本。这个不完整的基因产物是一个截短的 SRGAP2 蛋白，称为 SRGAP2C，也在大脑皮质表达并能抑制完整基因产物的活性。其结果是，大脑皮质的细胞分裂持续的时间更长，树突更大且有更多的连接（图 26.5；Charrier et al. 2012；Dennis et al. 2012）。基于基因组的证据计算，这些基因重复事件可能发生在 240 万年以前。南方古猿（*Australopithecus*）、灵长类动物脑体积增大、已知首次使用工具大约出现在这个时期（Tyler-Smith and Xue 2012）。

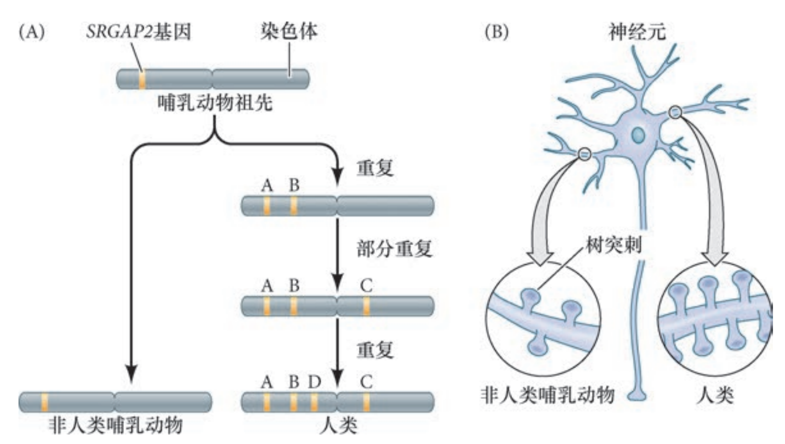


图 26.5　人类 *SRGAP2* 基因的重复和变异。(A) 除人类以外，所有哺乳动物的基因组中只存在一个 *SRGAP2* 基因。在人类的进化谱系中，重复事件使这个基因产生 4 个类似版本，指定为 A ～ D。(B)“祖先”基因，*SRGAP2A*，辅以 *SRGAP2B* 和 *SRGAP2D* 的次要作用，使神经元表面的树突刺（结节）成熟。*SRGAP2C* 基因是一个部分重复，其产物抑制 *SRGAP2A* 的功能，减缓树突刺的成熟并促进神经元迁移。这种部分重复有可能使人类的脑向更长的成熟时间和更大的柔韧性演化（参考 Geschwind and Konopka 2012）

26.3　深度同源性

演化发育生物学中最令人振奋的贡献之一不仅是发现了同源调节性基因，也发现了同源的信号转导途径，其中有很多我们在本书的前面已经予以描述。在不同的生物中，这些途径由同源的蛋白质组成，并且以一种同源的方式排列（Zuckerkandl 1994；Gilbert 1996；Gilbert et al. 1996）。这比单个基因具有更深度水平的简约性。

在某些情况下，同源的成分组成的同源途径在原口动物和后口动物中行使相同的功能（Shubin et al. 1997，2009），这被称为**深度同源性（deep homology）**。信号途径及其功能在几百万年的系统演化变异中的保守相似性被认为是这些模块之间深度同源性的证据（Shubin et al. 1997）。其中一个例子就是我们在第 11 章讨论的 Chordin/ 骨形态发生蛋白 -4 相互作用。在脊椎动物和无脊椎动物，Chordin/Short-gastrulation（Sog）抑制骨形态发生蛋白 -4/Decapentaplegic（Dpp）的侧部化作用，使外胚层受到 Chordin/Sog 的保护而变为成神经外胚层[6]。这个作用在各种动物中极其相似，以至于果蝇的 Dpp 蛋白能在非洲爪蛙中诱导腹部命运并能替代骨形态发生蛋白 -4（图 26.6；Holley et al. 1995）。

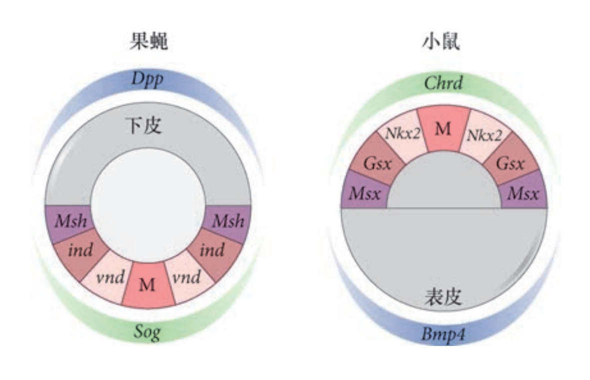


图 26.6　相同的一组指令在原口动物和后口动物中调节神经系统的形成。在果蝇（原口动物），转化生长因子 -β 家族的成员 *Dpp*（*Decapentaplegic*）在背部表达，而 *Sog* 在腹部表达。在小鼠（后口动物），转化生长因子 -β 家族的成员骨形态发生蛋白 -4（Bmp4）在腹部表达，而 *Chordin*（*Chd*）在背部表达。具有最高水平 Chordin/Sog 的细胞变成中线（M）。中线在脊椎动物位于背部，而在昆虫位于腹部，并且转化生长因子 -β 蛋白（骨形态发生蛋白 -4 或 Dpp）的浓度梯度在两组动物中以相同的顺序激活一些特化神经系统区域的基因 *vnd/Nkx2*，随后是 *ind/Gsx*，最后是 Msh/Msx。这些基因在刺胞动物中以类似的方式表达（参考 Ball et al. 2004）。

[6] 除了这种重要的抑制性反应以外，还存在其他反应进一步增加了对形成原口动物和后口动物神经管的指令的深度同源性。参与调节骨形态发生蛋白和 Chordin 扩散及稳定的蛋白质在昆虫和脊椎动物之间也是保守的（Larrain et al. 2001）。

基于这种设计，两侧对称动物的中枢神经系统是一次性起源的，并且骨形态发生蛋白 -Chordin 机制早在原口动物和后口动物的两侧对称祖先中就已经被使用。骨形态发生蛋白信号在腹侧（脊椎动物）或背侧（无脊椎动物）的定位是后来出现的事件（见 Mizutani and Bier 2008）。环节动物蠕虫和头索动物同样需要通过抑制骨形态发生蛋白信号途径来形成它们的中枢神经系统这一证据支持了上述观点（Danes et al. 2007；Yu et al. 2007）。因此，尽管有明显的差异，原口动物和后口动物中神经系统的形成看似都受控于相同的指令。的确，有研究认为脊椎动物和无脊椎动物脑的某些部分的形成也具有深度同源性（Strausfeld and Hirth 2013）。

科学家讲座 26.1 这个领域的先驱者 Sean Carroll 博士讲述演化发育生物学的问题。

26.4 进化的机制

在 1975 年，Mary-Claire King 和 Alan Wilson 发表了一篇题为“人类与黑猩猩在两个水平上的进化”的文章。这个研究显示，尽管黑猩猩和人类有很大的解剖学差异，它们的 DNA 几乎完全相同。一些差异存在于发育过程中起作用的调节性基因：

> 黑猩猩与人类之间的生物体差异可能主要来自少数调节性系统的遗传变化，而氨基酸替代总的来说在重要的适应变迁中不是一个关键的因素。

换句话说，编码蛋白质序列（在黑猩猩和人类之间几乎一样）的基因的等位基因替代并不被认为很重要。重要的差异是一些基因激活的位置、时间和程度。在 1977 年，调节性基因的变化对进化有关键作用这个观点被 François Jacob 拓展，这位诺贝尔奖获得者曾经帮助建立了基因调节的操纵子模型。首先，Jacob 指出，进化在已有的基础上发生：它以新的方式组合现有的部分，而不是创造新的部分。其次，Jacob 预测，这样的“修补”很可能是发生在那些构建胚胎的基因，而不是发生在那些在成体中发挥功能的基因（Jacob 1977）。

Wallace Arthur（2004）总结了 4 种方式，能使 Jacob“修补”发生在基因表达水平以产生供自然选择的表型变异：

1. 异位发生（位置上的变化）；
2. 异时发生（时间上的变化）；
3. 异量发生（程度上的变化）；
4. 异型发生（类型上的变化）。

这些变化只有在基因表达图式呈模块化时才能实现，也就是说，这些变化受控于不同的增强子元件。发育的模块化使生物体的一个部分发生变化而不一定会影响其他部分[7]。

26.4.1 异位发生

建立新结构的一个重要方式就是改变转录因子或旁分泌因子表达的位置。这种基因表达的空间变化称为**异位发生**（**heterotopy**，希腊语，“不同位置”）。异位发生使不同的细胞获得了一个新特征（例如，海胆的小分裂球招募骨骼形成的基因；见第 10 章），或者在一个新的区域激活或抑制一个旁分泌因子介导的过程［例如，Gremlin 抑制骨形态发生蛋白介导的指（趾）间蹼细胞凋亡；见图 19.33］。还有很多其他例子，我们将在下面予以描述。

蝙蝠怎样获得它的翼而龟获得它的壳 在第 1 章，我们提及蝙蝠通过改变前肢的发育使指间蹼细胞

[7] 这一章关注能产生新形态的转录水平变化，但形态的变化也能在其他水平上发生。例如，Abzhanov 和 Kaufman（1999）证明，性梳减少（*sex combs reduced*）基因的转录后调节在陆地甲壳动物鼠妇（*Porcellio scaber*）中对腿转变为颚足有关键作用。

不经历死亡而演化出它的翼。实际上，蝙蝠保持其前肢蹼与鸭胚胎保持其后肢蹼的方式非常相似，都是通过抑制引起指（趾）间细胞经历细胞凋亡的骨形态发生蛋白（见图 1.19）。Gremlin 和成纤维细胞生长因子信号似乎在蝙蝠翼中抑制骨形态发生蛋白信号。与其他哺乳动物不同，蝙蝠的指间蹼表达成纤维细胞生长因子 -8，这个蛋白质对维持指间蹼细胞至关重要。如果成纤维细胞生长因子信号受到抑制（如使用 SU5402 药物），骨形态发生蛋白就能像在其他哺乳动物中一样，诱导蝙蝠前肢蹼的细胞凋亡（Laufer et al. 1997；Weatherbee et al. 2006）。表达在蹼上的成纤维细胞生长因子 -8 似乎也提供有丝分裂信号，使蝙蝠指延伸，从而使翼扩展（Hockman et al. 2008；Sears 2008）。

龟壳的形成也使用骨形态发生蛋白和成纤维细胞生长因子，但以不同的方式。龟与其他脊椎动物的区别是它们的肋骨，这些肋骨向侧部迁移至真皮，而不是形成一个肋架（**图 26.7**）。龟的真皮的一些区域吸引肋骨前体细胞，这些真皮区域因为合成成纤维细胞生长因子 -10 而与其他脊椎动物的真皮不同。成纤维细胞生长因子 -10 似乎吸引肋骨，如果抑制成纤维细胞生长因子 -10 信号，肋骨就不能进入真皮（Burke 1989；Cebra-Thomas et al. 2005）。肋骨的侧向生长使一些肌肉建立新的附着点，并使肩胛骨（肩胛）处于肋骨内部。这个现象仅见于龟（Nagashima et al. 2009）。一旦进入真皮，肋骨细胞就会完成它们预期要做的事情，也就是进行软骨内成骨，使软骨细胞被骨取代。为此，肋骨细胞骨合成形态发生蛋白。但是肋骨被真皮包裹，并且真皮细胞也能应答骨形态发生蛋白而变成骨（Cebra-Thomas et al. 2005；Rice et al. 2015）。通过这种方式，每个新定位的肋骨指令周围的真皮变成骨，龟也因此获得了它的壳。这些关于龟发育的结论促进了龟进化起源的新古生物学理论（Lyson et al. 2013）。

26.4.2　异时发生

异时发生（**heterochrony**，希腊语，“不同时间”）是两个发育过程在相对顺序或时间上发生了变化。异时发生能出现在发育的任何水平，从基因调节到成体动物的行为（West-Eberhard 2003）。在异时发生中，一个模块相对于胚胎的其他模块改变表达时间或生长速度。我们在整个动物界的发育中都能观察到异时发生的变化。就像达尔文（1859，第 209 页）提到的那样，“我们可以很自信地认为很多变异，完全归因于生长的规律并且最初对一个物种没有任何益处，随后被这个物种进一步受到修饰的后代所利用”。

异时发生在脊椎动物的进化中非常普遍。我们已经讨论过人类脑的延伸生长和两栖类变态的异时生长。另一个例子见于有袋类，它们的颌和前肢比其他胎盘哺乳动物发育得更快，使新生的有袋类动物爬进育儿袋里吸奶（Smith 2003；Sears 2004）。鸟类被认为在某种程度上起源于恐龙骨骼的异时生

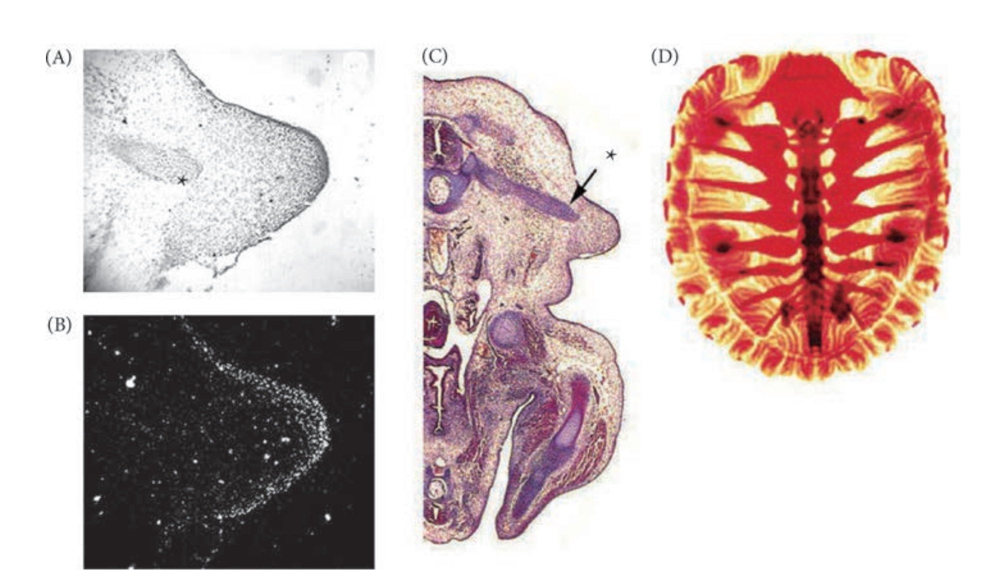


图 26.7　龟发育过程中多水平的异位发生。龟甲（背壳）通过一系列层次的异位发生而形成。真皮某些区域表达的成纤维细胞生长因子 -10 促使肋骨前体细胞向侧部迁移到真皮，而不是形成一个肋架。（A，B）肋骨进入真皮时早期龟胚胎的横切面（A，明场；B，成纤维细胞生长因子 -10 的放射自显影染色）。（C）稍后期龟胚胎的半部横切面，显示一个肋骨从椎骨向将要扩张形成壳的真皮区域延伸。（D）茜素染色的幼龟以显示骨骼。在肋骨周围的真皮中可见骨骼。异位发生包括成纤维细胞生长因子 -10 的表达、肋骨的定位及骨骼的位置（参考 Loredo et al. 2001）。

长（McNamara and Long 2012；Bhullar et al. 2012）。蛇胚胎中数目巨大的椎骨和肋骨（有些物种超过 500 个）也同样归因于异时发生（以及 *Hox13* 旁系同源组的变化）。与相关的脊椎动物胚胎相比，蛇胚胎的分节反应周期比组织生长快差不多 4 倍（Gomez et al. 2008）。

在某些情况下，我们可以确定某些基因表达的异时变化。海豚鳍肢上延伸的指似乎是成纤维细胞生长因子 -8 基因异时表达的结果，我们在第 19 章看到它编码一个参与肢外向生长的旁分泌因子（Richardson and Oelschläger 2002；Cooper 2010）。另一个分子异时发生的“数字”（“指 / 趾”）例子见于蜥蜴属（*Hemiergis*），这个属中的一些物种每个肢具有 3 个、4 个或 5 个趾。趾的数目受控于 *Sonic hedgehog* 基因在肢芽极性活性区保持活跃状态所持续的时间。Shh 表达的时间越短，趾的数目就越少（Shapiro et al. 2003）。在灵长类，一组大脑 mRNA 的转录出现异时变化，它们在成人中的表达图式类似于幼年黑猩猩中的表达图式（Somel et al. 2009）。

26.4.3 异量发生

异量发生（**heterometry**）是一个基因产物或结构的量变。我们在第 16 章讨论墨西哥盲洞穴鱼的进化时提及了这种异量变化（见图 16.7）。Sonic hedgehog（Shh）蛋白在中线索前板的高表达下调 *Pax6* 基因，阻止眼的形成。但是高表达 *Shh* 也产生其他后果。这不仅使眼退化，也导致颌规模和味芽数目的增加（Franz-Odendaal and Hall 2006；Yamamoto et al. 2009）。因为洞穴鱼生活在完全黑暗中，它们的颌和味觉的扩张是以视觉为代价而被选择出来的。异量发生也见于人对寄生虫的应答：在这些寄生物流行的人群体中，引起白细胞介素 -4 高表达的一个突变已经（正在）被选择出来（Rockman et al. 2003）。

网络话题 26.3 **异速生长** 模块化与异量生长在异速生长中结合：生物体的不同部分与它们的祖先相比以不同的速度生长。不同犬品种的头骨就是一个很好的例子，鲸鱼的头骨也是一样。但人脑的异速生长却是尤其引人注目。

达尔文雀 异量生长的最好例子之一就是著名的达尔文雀族，这是达尔文与他的同船水手在 1835 年考察加拉帕戈斯群岛和科科斯群岛时收集的一组 15 只亲缘关系密切的鸟类。这些鸟帮助达尔文构思了渐变演替这个进化学说，并且它们仍然是适应辐射和自然选择的最好例子之一（见 Weiner 1994；Grant and Grant 2008）。分类学家证明，这些雀类物种以一种特殊的方式演变，其中一个主要的物种形成事件是仙人掌雀与地雀的分离。地雀演变出长和宽的喙，使得它们能裂开种子，而仙人掌雀演化出窄的和尖的喙，使得它们能探取仙人掌花和果实中的昆虫及花部。早期的研究（Schneider and Helms 2003）证明，喙图式的物种差异是额鼻突神经嵴来源的间充质（形成面部骨骼的细胞）的生长变化而产生的。Abzhanov 及其同事（2004）发现，雀的喙形态与骨形态发生蛋白 -4 表达的时间和量密切相关（**图 26.8**）。其他旁分泌因子不显示这种差异。与仙人掌雀相比，地雀中骨形态发生蛋白 -4 的表达更早且更强。在所有的情况下，骨形态发生蛋白 -4 的表达图式都与喙的宽度和长度相关。

这些表达差异的重要性通过改变鸡胚胎的骨形态发生蛋白表达图式的实验以模拟地雀中的异量和异时变化被证实（Abzhanov et al. 2004；Wu et al. 2004）。如果增强骨形态发生蛋白在额鼻突间充质的表达，鸡胚胎就发育出具有地雀喙特征的宽喙。反过来，在这个区域抑制骨形态发生蛋白信号时（使用头蛋白，骨形态发生蛋白的一个抑制物），喙就失去了长度和宽度。

但这只是故事的开始。基因芯片技术显示，钙调蛋白基因在尖喙仙人掌雀的喙原基的表达比在钝喙地雀的喙原基的表达高 15 倍。钙调蛋白结合很多酶，使它们的活性依赖于钙离子。原位杂交及其他技术证明，钙调蛋白基因在仙人掌雀胚胎喙的表达比在地雀胚胎喙的表达呈现更高的水平（**图 26.9**）。如果上调鸡胚胎喙中的钙调蛋白表达以模拟雀样的表达区域，鸡的喙也变得既长又尖。

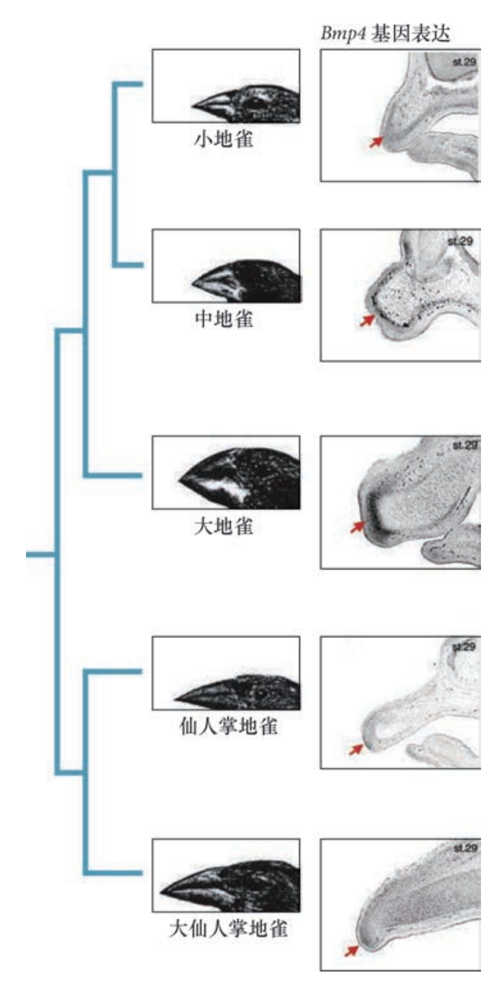


图 26.8　五种达尔文雀物种中喙形与骨形态发生蛋白 -4 基因（*Bmp4*）表达之间的关联。在地雀属（*Geospiza*），地雀（以小地雀、中地雀和大地雀为代表）偏离仙人掌雀（以仙人掌地雀和大仙人掌地雀为代表）。喙形态的差异与骨形态发生蛋白 -4 在喙中表达的异时发生和异量发生变化相关。骨形态发生蛋白 -4（红色箭所示）在破碎种子的地雀中表达得更早并且表达水平更高。这些胚胎喙的图片都是来自相同的发育时期（第 29 期）。这种基因表达差异为自然选择对这些鸟的作用提供了一种解释（参考 Abzhanov et al. 2004）。

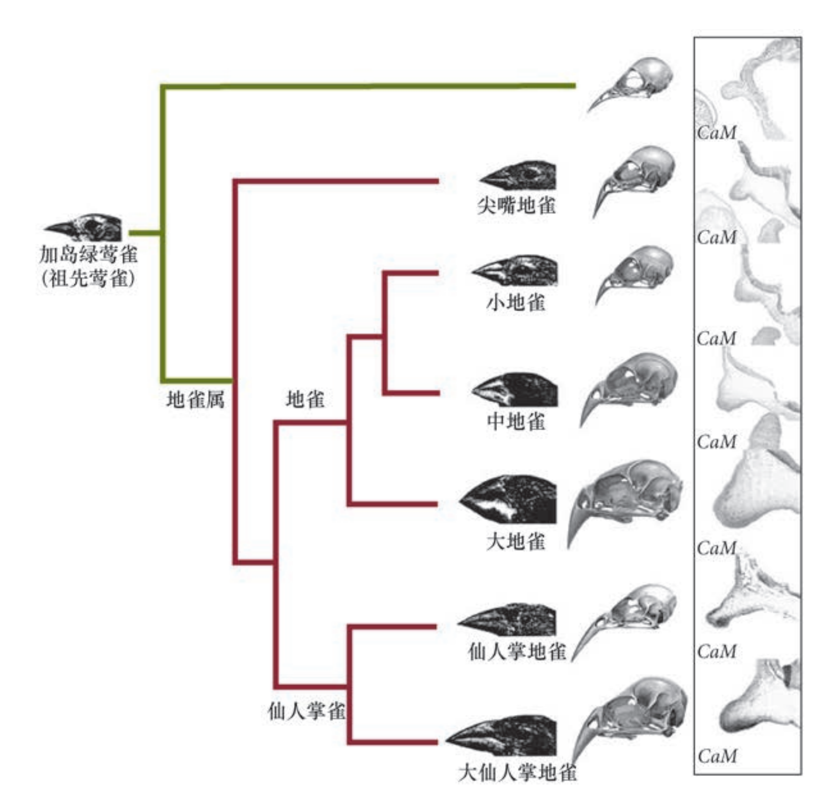


图 26.9　六种达尔文雀物种中喙的长度与钙调蛋白基因（*CaM*）的表达量之间的关联。呈现不同喙形态的地雀属（*Geospiza*）物种属于单系群，喙形态的差异能通过骨骼显示出来。钙调蛋白表达在大仙人掌地雀（*G. conirostris*）上喙突间充质的最远端腹部区域，在仙人掌地雀（*G. scandens*）的表达水平相对较低，在大地雀（*G. magnirostris*）和中地雀（*G. fortis*）只有极低的表达。尖嘴地雀（*G. difficilis*）、小地雀（*G. fuliginosa*）和加岛绿莺雀（*Certhidea olivacea*）的间充质也表达极低水平的钙调蛋白（参考 Abzhanov et al. 2006）。

额鼻突间充质形成两个产生成体喙的模块：前颌骨和前鼻软骨。前鼻软骨在喙发育过程中形成得较早，并且建立物种特异的喙形态。前鼻软骨的形态受骨形态发生蛋白和钙调蛋白信号的协同调节，这些信号与演变中的喙形的精确标定参数有很好的关联（Campàs et al. 2011；Mallarino et al. 2011，2012）。因此，控制喙特异性骨形态发生蛋白 -4 和钙调蛋白合成量的增强子可能对达尔文雀的进化有关键作用。骨形态发生蛋白 -4 和钙调蛋白代表自然选择的两个靶点，它们共同为达尔文雀的形态变异提供了解释（Abzhanov et al. 2006；Campàs et al. 2011）。

26.4.4　异型发生

在异时发生、异位发生和异量发生中，突变影响基因的调节性区域。基因的产物，即蛋白质，没有发生变化，尽管它可能在新的位置、在不同的时间或以不同的量被合成出来。**异型发生**（**heterotypy**）的变化影响基因的编码区域，因此能改变蛋白质的功能特性。基因的蛋白质编码区域发生的这些变化通常见于一些仅在一种或少数组织表达的基因，说明多效性（见下文）限制那些泛表达基因的变化（Haygood et al. 2010；Wu et al. 2011）。然而，转录因子编码序列的变化可能对动物和植物的进化产生巨大影响。

妊娠如何在哺乳动物中演化出来 哺乳动物最令人好奇的特征之一是雌性的子宫，这是一个能够在母体内容纳、滋养和保护胎儿的结构。使这种内部妊娠成为可能的关键蛋白之一是催乳素。催乳素促进子宫上皮细胞的分化、调节滋养层的生长、使血管向胚胎展开，并且帮助下调免疫和炎症反应，使母体不将胚胎视为一种“异物”而去排斥它。

几乎在哺乳动物子宫和妊娠演变的同时，哺乳动物的同源异形基因之一 *Hoxa11*，似乎在产生胎盘哺乳动物的谱系中经历了剧烈的突变和选择。Hoxa11 蛋白的序列在哺乳动物中发生了变化，使它能与转录因子 Foxo1a 结合并与其相互作用（图 26.10；Lynch et al. 2004，2008）。Hoxa11 与 Foxo1a 结合后能通过子宫上皮细胞使用的增强子来上调催乳素的表达。非真哺乳动物纲的哺乳动物（如负鼠和鸭嘴兽）和鸡的 Hoxa11 并不上调催乳素的表达。如果在小鼠子宫细胞中敲除 *Hoxa11*，催乳素便不能表达。因此，哺乳动物谱系最重要的进化之一似乎涉及 Hoxa11 序列的异型变化。

网络话题 26.4 **转座元件与妊娠的起源** 子宫蜕膜细胞是使胎儿能够驻留在子宫内的孕酮应答细胞类型。这种细胞类型可能通过反转录病毒引起的基因表达的重图式化演变而来。

为什么昆虫有六条腿 昆虫只有六条腿，而其他节肢动物群（想一下蜘蛛、千足虫、蜈蚣、龙虾和虾）有更多的腿。昆虫为什么只在它们的三个胸节上形成腿，而腹节上没有腿？对于这个问题似乎能在超级双胸蛋白和 *Distal-less* 基因之间的关系中找到答案。在多数节肢动物种群，超级双胸蛋白不抑制 *Distal-less* 基因。但在昆虫谱系，超级双胸蛋白的基因发生了突变，蛋白质编码区的初始 3′ 端被一组碱基取代，这个序列在蛋白质的羧基端编码一串大约 10 个丙氨酸残基（图 26.11；Galant and Carroll 2002；Ronshaugen et al. 2002）。这个聚丙氨酸区域抑制 *Distal-less* 基因在腹节的转录。

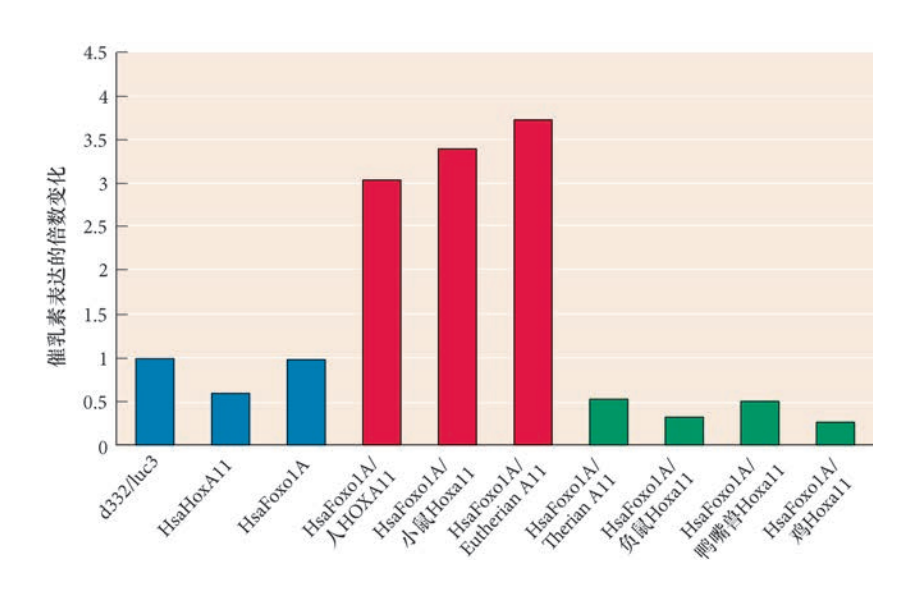


图 26.10 哺乳动物 Hoxa11 蛋白与 Foxo1a 蛋白共同激活子宫催乳素基因增强子表达的能力。荧光素酶报道基因（*d332/luc3*）、活化的人 *Hoxa11* 基因（*HsaHoxa11*），以及活化的人 *FOXO1A* 基因（*HsaFoxo1a*）都不能单独通过这个增强子激活催乳素基因的表达。哺乳动物（但不是负鼠、鸭嘴兽或鸡）的 Hoxa11 仅在 Foxo1a 存在的情况下才能通过这个增强子上调催乳素的转录。“Eutherian A11”（“真哺乳动物亚纲 A11”）代表胎盘哺乳动物表达的 Hoxa11。“Therian A11”（“兽亚纲哺乳动物 A11”）指所有哺乳动物的 Hoxa11 共有序列（参考 Lynch et al. 2008）。

当丰年虾的超级双胸蛋白基因被实验的方法改造而编码昆虫的聚丙氨酸区域，虾的胚胎就能抑制 *Distal-less* 基因。超级双胸蛋白抑制 *Distal-less* 基因的能力似乎代表昆虫谱系特征的获得功能突变所产生的结果。

网络话题 26.5 **脊索动物如何获得头部？** 神经嵴参与形成脊索动物的头部。但神经嵴是如何形成的？祖先后口动物可能已经具备了所有的必要基因，但只有在脊索动物中这些基因才互相连接成产生神经嵴细胞的网络。

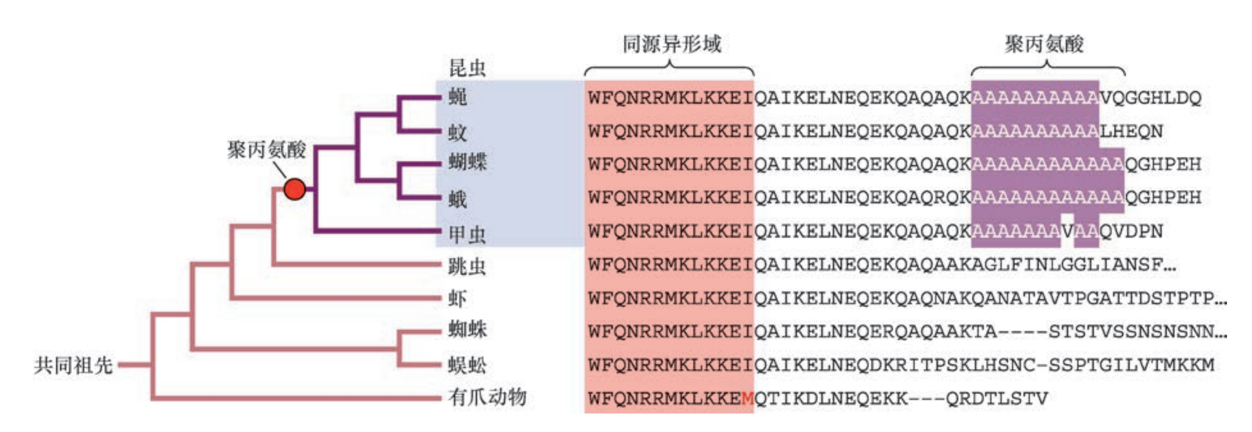


图 26.11　节肢动物进化中昆虫进化枝相关的超级双胸蛋白的变化。在所有的节肢动物，只有昆虫具有阻断 *Distal-less* 基因表达的超级双胸蛋白，因此抑制腿在腹部形成。抑制 *Distal-less* 基因的能力归因于昆虫超级双胸基因的一个突变（参考 Galant and Carroll 2002；Ronshaugen et al. 2002）。

26.5　发育限制对进化的作用

只有大约不到 40 个主要的动物谱系，但它们包含了动物界所有不同的形体构型。通过想象不存在的动物，你能很容易地设想其他形体构型，科幻小说的作者一直都在做这样的事情。那么为什么我们在现生动物中没有看到更多的形体构型？要回答这个问题，我们必须考虑施加于进化的限制。不同的科学家对约束的这个概念有不同的解读。很多的种群生物学家认为约束是对“理想”适应的限制（如对最优觅食的限制），而发育生物学家将约束视为限制某些甚至是已有表型的可能性（见 Amundson 1994，2005）。

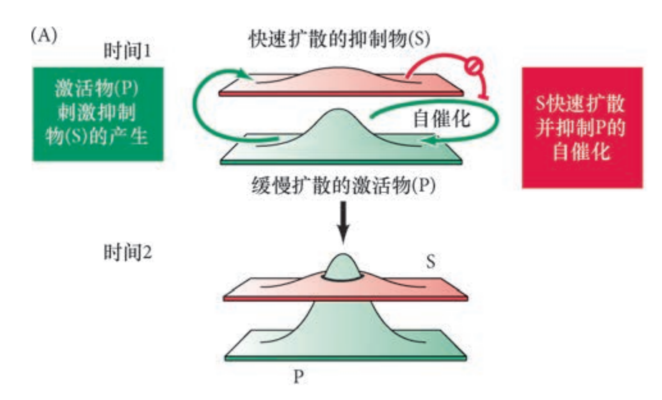
可能的表型的数量和形式受制于分子之间及模块之间可能存在的相互作用。这些相互作用也能使变异更容易向某些方向发生。这些约束统称为**发育限制**（**developmental constraint**），并且可被分为三大类：物理限制、形态发生限制和多效性限制（见 Richardson and Chipman 2003）。

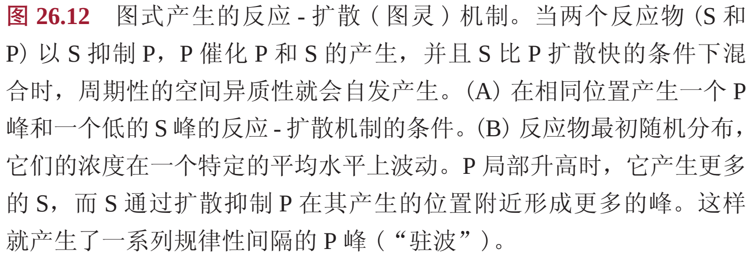
物理限制　扩散、水力学和物理支撑规律是不可改变的，只能允许某些物理表型的产生。例如，血液不能循环到一个旋转的器官；因此，一个在轮式附属物上的脊椎动物（就像多罗西在《绿野仙踪》中看到的那种）不会存在，那么这样的一个进化路线就会被关闭。类似地，结构参数和流体动力学将不允许 6 英尺（1 英尺相当于 30.48 cm）高的蚊子或 25 英尺长的蚂蝗存在。

形态发生限制　Bateson（1894）和 Alberch（1989）注意到，生物体只能通过有限的方式去偏离它们的正常发育。例如，尽管脊椎动物的肢在 3 亿多年来发生了很多变化，但有一些变化（如中指比其他指短，或者中段骨比近段骨更接近体壁；见第 19 章）从未出现过（Holder 1983；Wake and Larson 1987）。这些观察说明了肢的构建方案遵循某些规则（Oster et al. 1988；Newman and Müller 2005）。

形态发生限制的主要来源之一是分化的图式仅能通过有限的方式从同质性中产生。这些图式化机制的关键是**反应 - 扩散机制**（**reaction-diffusion mechanism**）。阿兰 • 图灵在 1952 年提出的这个发育图式化机制是从初始均匀分布的物质中产生复杂化学图式的一种方式。图灵意识到，这个图式化不能在单一形态发生素存在的情况下发生，但它可通过两个均匀分布的物质（“物质 P”和“物质 S”）来完成，假设每种物质产生的速度互相依赖。他进一步证明，这种网络的动力学能产生驱动发育变化的稳定图式。

在图灵的模型中，物质 P 促使产生更多的物质 P 和物质 S。但是物质 S 抑制物质 P 的产生。图灵的数学计算显示，如果物质 S 比物质 P 更容易扩散，物质 P 就会产生浓度差异的锐波（图 26.12）。反应 - 扩散机制预测某些物质的高浓度和低浓度的交替区域。当物质的浓度高于某个阈值水平时，一个细胞（或一组细胞）就会被指令以某种方式分化。





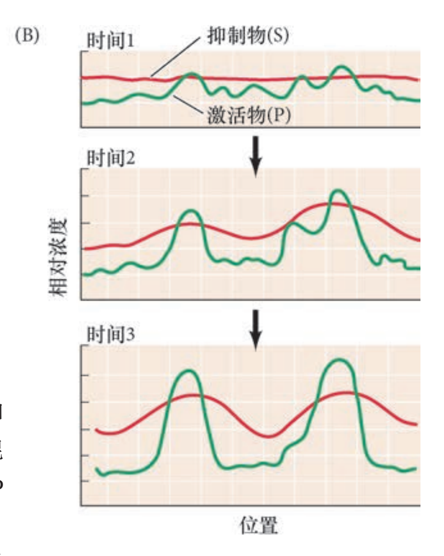


图 26.12 图式产生的反应 - 扩散（图灵）机制。当两个反应物（S 和 P）以 S 抑制 P，P 催化 P 和 S 的产生，并且 S 比 P 扩散快的条件下混合时，周期性的空间异质性就会自发产生。(A) 在相同位置产生一个 P 峰和一个低的 S 峰的反应 - 扩散机制的条件。(B) 反应物最初随机分布，它们的浓度在一个特定的平均水平上波动。P 局部升高时，它产生更多的 S，而 S 通过扩散抑制 P 在其产生的位置附近形成更多的峰。这样就产生了一系列规律性间隔的 P 峰（“驻波”）。

图灵模型的一个重要特征是特定的化学波长将会被扩增，而所有其他波长将会被抑制。随着物质 P 的局部浓度增高，物质 S 的值就会以物质 P 的峰为中心形成一个峰，但会变得既宽又浅，因为物质 S 很容易扩散。物质 S 的这些峰抑制物质 P 形成其他峰。但在物质 P 形成的众多峰中哪些峰能保留下来？这取决于发生震荡反应的组织的规模和形态。这个图式类似于震动弦的谐波，例如，吉他只能产生某些共鸣震动。波长来自一些常量，特别是扩散常量的比率。描述哪些特定波长受到选择的数学计算涉及复杂的多项式方程（但现在已经能通过计算机解决）。

图灵模型已被用于解释四足动物的肢和指（趾）形成（见第 579-581 页和第 589-590 页），以及斑马和天使鱼的条纹与齿尖的形成。

网络话题 26.6 **斑马（以及天使鱼）如何获得它们的条纹？** 反应 - 扩散机制似乎对动物的皮肤产生条纹和斑点有至关重要的作用。“斑马如何获得它们的条纹”可以通过这样的机制进行预测，而且不同物种的斑马可能通过改变扩散来形成它们的条纹。

网络话题 26.7 **一颗牙如何形成正确数目的齿尖？** 脊椎动物的牙根据动物所吃的食物而演变，不同的牙形状反映旁分泌因子表达的不同时间和表达量。

多效性限制 随着基因获得新的功能，它们可能会在多个模块中具有活性，使进化变异更难以发生。**多效性**（**pleiotropy**），即基因在不同细胞中发挥不同作用的能力，是模块化的“对立面”，涉及各部分之间的联系而不是它们的独立性。多效性可能是哺乳动物发育限制的基础。Galis 猜测，哺乳动物之所以只有 7 个颈椎（而鸟类可能有十多个），是因为特化这些椎骨的同源异形基因与哺乳动物的干细胞增殖有关（Galis 1999；Galis and Metz 2001；Abramovich et al. 2005；Schiedlmeier et al. 2007）。因此，可能促使骨骼进化变异的同源异形基因的表达变化也可能会错误调节细胞增殖而导致癌症。Galis 通过骨骼形态的变化与儿童期癌症相关的流行病学证据支持了这个猜测。防止形成多于或少于 7 个颈肋骨的胚胎内选择看似非常强烈。至少 78% 具有一个额外前肋骨（即 6 个颈椎）的人胚胎在出生前死亡；在这样的新生儿中，有 83% 在第一年后死亡。这些死亡似乎是多种先天性异常或癌症所导致的（图 26.13；Galis et al. 2006）。



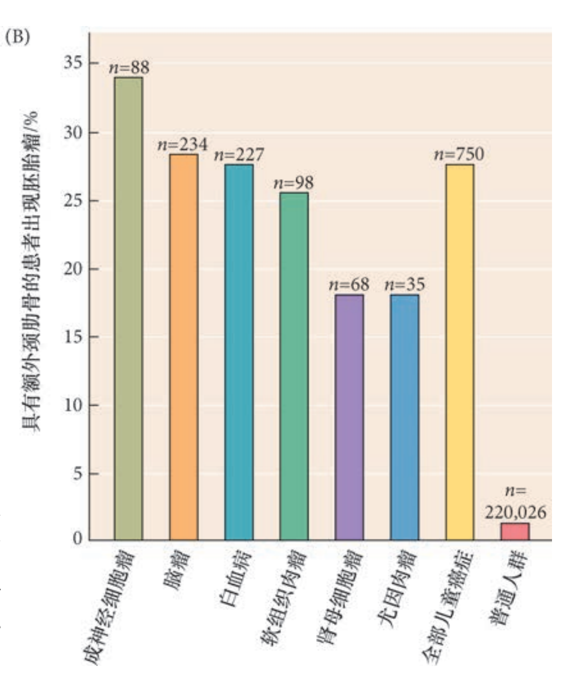


图 26.13 额外的颈肋骨与儿童期癌症相关。(A) X 光片显示一个额外的颈肋骨。(B) 接近 80% 具有额外颈肋骨的胎儿在出生前死亡。那些生存下来的胎儿经常在很早期出现癌症。这说明存在一种抵御哺乳动物颈肋骨数目变化的强烈选择（参考 Galis et al. 2006，由 F. Galis 提供）。

26.6 可选择的表观遗传变异

发育的变化提供变异的原材料。但是我们在本书的前面看到（尤其是第 25 章），发育的信号既能来自环境，也能来自细胞核和细胞质。这种环境诱导的变异是否能被继承并且是可选择的？这个想法有点像拉马克学说，认为环境诱导的性状能通过生殖系被遗传下来。我们现在知道拉马克关于用进废退而获得的表型能够传递的想法是错误的。能举重的孩子并不是因为他们继承了父母的体质；由于事故而缺失肢的人可以放心，他们的孩子在出生时会有正常的手臂和腿。如果生殖细胞的 DNA 没有被改变，环境诱导的变异就将不会从一代传递到下一代。

但是，如果一种环境因素不仅在体细胞的 DNA 也在生殖系的 DNA 引起变异会是怎样？这样的影响就可能从一代传递到下一代。有两种已知的主要“表观遗传系统”，即表观等位基因和共生生物，它们能使环境诱导的变异从一代传递到下一代。第三个过程是遗传同化，当一些环境诱导的性状受到不断的选择时就能被遗传稳定，这样的性状能遗传下来而不需要在每一代都受到诱导。

表观等位基因 虽然作为遗传继承系统基础的等位基因是 DNA 序列的变异体，但表观遗传继承系统的**表观等位基因**（**epiallele**）是能被世代继承的染色质结构。在多数已知的情况下，表观等位基因能够影响生殖系，从而是能被传递到子代的 DNA 甲基化图式的差异。云兰属植物（*Linaria vulgaris*）的不对称反常整齐花变异体（*peloria* variant）在 1742 年被林奈（Linnaeus）首次描述为一种稳定继承的形式（图 26.14）。在 1999 年，Coen 证明，这个变异体并不是由于一个不同的等位基因引起的，而是通过一个稳定的表观等位基因。在反常整齐花变异体中，*cycloidea* 基因没有发生突变，而是出现了超甲基化。无论一个基因是被突变或被染色体构型的改变所失活，这对发育系统都无关紧要（Cubas and Coen 1999），因为效果都一样。

有十多种表观等位基因遗传的例子（Jablonka and Raz 2009；Gilbert and Epel 2015），具体如下。

- **饮食诱导的 DNA 甲基化**。在可存活的 *Agouti* 表型小鼠中，甲基化的差异影响毛色和肥胖症。给妊娠雌鼠喂以高甲基供体的食物时，*Agouti* 基因座的特异性甲基化图式不仅能传递到正在子宫内发育的小鼠，也能传递到这些小鼠的子代及这些子代的后代（Jirtle and Skinner 2007）。类似地，在大鼠中蛋白质限制的饮食能在子宫内建立酶和代谢的表型，因为祖母大鼠妊娠期间的蛋白质限

(A)



(B)

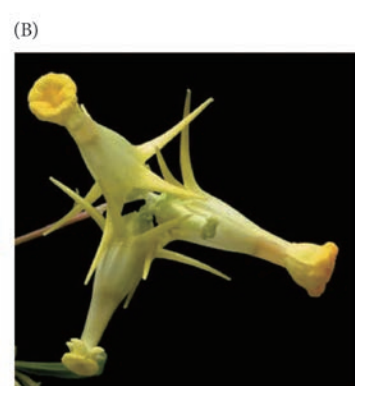


图 26.14 云兰属植物的表观等位基因形式。(A) 普通型的云兰属植物 (*Linaria*) 具有未甲基化的 *cycloidea* 基因。(B) 反常整齐花变异体的 *cycloidea* 基因具有相对高的甲基化状态。在这个物种中建立不同表型的表观等位基因能被稳定继承（由 R. Grant-Downton 提供）。

制在其幼仔和孙仔中产生特异的甲基化图式 (Burdge et al. 2007)。

- **环境激素诱导的 DNA 甲基化**。环境激素乙烯菌核利、甲氧氯及双酚 A 能在生殖系中改变 DNA 甲基化图式，从而在子宫内暴露于这些化学物质的小鼠的孙代中导致发育异常和疾病敏感性（见图 24.15；Anway et al. 2005，2006a，b；Newbold et al. 2006；Crews et al. 2007，2012）。
- **行为诱导的 DNA 甲基化**。大鼠的抗压力行为被证明是由于母育诱导的糖皮质激素受体基因的甲基化图式。Meaney (2001) 发现，母育程度高的大鼠具有较轻的应激诱导的焦虑状态，而且雌性大鼠在成为母亲时也会给予后代同样程度的母育。

共生生物变异 如我们在第 25 章所述，表型可塑性的一个重要方面是与一个预期的共生生物群体的相互作用。当共生生物通过生殖系被传递时（如很多昆虫中的沃尔巴克氏属细菌），这些共生生物就提供了第二种继承系统 (Gilbert and Epel 2009)。

很多共生关系都涉及具有快速生长而且在环境压力下比多细胞生物变化更快的微生物。Rosenberg 等 (2007) 描述了四种机制，使微生物比单独的宿主基因组为整个生物体赋予更大的适应潜能。第一，与宿主相关的微生物的相对丰度在环境压力改变时能有效地随之变化。第二，适应性变异能来自群落中一个新的共生生物的进入。第三，通过重组或随机突变而发生的变化在微生物共生生物中的积累比在宿主中的积累更快。第四，共生群落的成员之间存在基因水平传递的可能性。

共生生物能作为可选择的变异的来源。例如，豌豆蚜虫 (*Acrythosiphon pisum*) 的大多数细胞中有很多共生生物物种。其中一种共生细菌物种——蚜虫初级内共生菌 (*Buchnera aphidicola*)，能为蚜虫提供更高的繁殖力或耐热能力，这取决于细菌产生哪一个等位基因的热激蛋白。另一种共生细菌——立克次氏小体属 (*Rickettsiella*) 中的一个物种，含有能改变蚜虫颜色的等位基因（图 26.15）。第三种共生细菌 (*Hamiltonella defensa*) 能（如果是合适的品种）为宿主蚜虫提供防御拟寄生蜂的蛋白质 (Dunbar et al. 2007；Oliver et al. 2009；Tsuchida et al. 2010)。这些共生生物通常是通过蚜虫的卵细胞质被继承下来的（见第 25 章）。因此，可选择的表观遗传变异可以通过卵来获得，但使用另外一组基因。

26.6.1 遗传同化

在 20 世纪初期，一些进化生物学家猜测，环境能选择各种环境诱导的表型之一，然后这个表型就会被“固定”，也就是说对于这个物种呈显性。换句话说，环境既能诱导也能选择一种表型。但那个时代的科学家没有发育或遗传的理论为它们的假说提供机制。当这个想法在 20 世纪中期被重新探讨时，人们提出了多个模型以解释连续的选择如何在一个群体中固定一种特定的环境诱导表型。

这种可塑性驱动的适应方案的最重要假说之一是**遗传同化** (**genetic assimilation**) 这个概念被定义为最初因应答一些环境影响而产生的一种表型特征，经过一个选择过程后被基因型所继承，因此，即便是产生它的环境影响不存在时，该表型也能形成 (King and Stanfield 1985)。遗传同化这个观点最初由 Waddington (1942，1953，1961) 和 Schmalhausen (1949) 独立提出，用于解释人工选择实验的显著结果，其中，



图 26.15 成体豌豆蚜虫的颜色取决于它们的细胞是否含有立克次氏小体属（*Rickettsiella*）细菌共生生物。(A) 没有立克次氏小体属细菌时，红色的新生蚜虫幼体就会变成红色的成体。(B) 立克次氏小体属细菌存在时，红色的新生蚜虫幼体变成了绿色的成体（来自 Tsuchida et al. 2010，照片由 T. Tsuchida 提供）。

拓展性问题

最近的证据说明共生生物在进化事件中有关键作用。细菌如何参与生殖隔离（不同种群的个体不能互相交配，即使能交配也不能繁殖后代的情况——译者注）及多细胞动物的起源？

一种环境诱导的表型即使没有最初诱导它所需的外部刺激物也能表达出来。

实验室中的遗传同化 遗传同化很容易在实验室予以证明。例如，Waddington 证明，他实验室的果蝇品系在应答乙醚时有一个特殊的反应规范。在特定时期暴露于乙醚的胚胎发育出类似于双胸基因突变的表型，具有四个翅而不是两个翅。果蝇的平衡棒（位于第三胸节的平衡结构）被转变成翅（见第 9 章）。在每一代都使胚胎暴露于乙醚，并将具有四个翅的个体选择出来进行繁殖。到第 20 代时，即使没有乙醚，交配的果蝇也能产生具有突变表型的胚胎（图 26.16；Waddington 1953，1956）。

在 1996 年，Gibson 和 Hogness 重复了 Waddington 的双胸实验并得到了类似的结果。而且，他们发现果蝇群体中超级双胸基因存在四个不同的等位基因。超级双胸是一个同源异形基因，正是这个基因的缺失功能突变导致了可遗传的四翅表型（见图 9.25）。

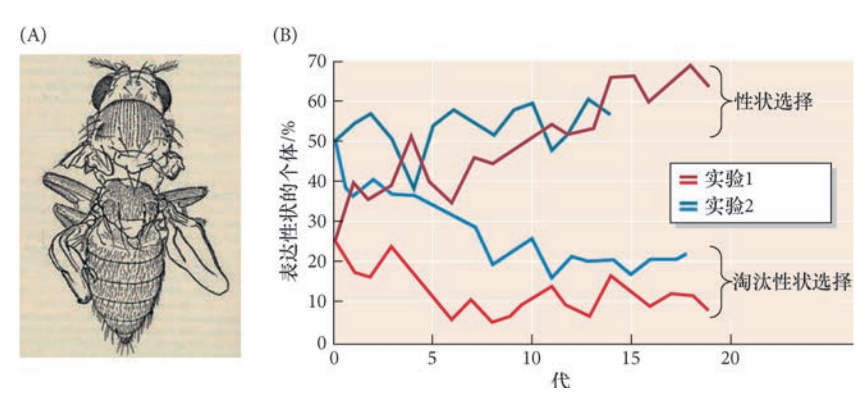


图 26.16 双胸基因突变的拟表型。(A) 乙醚处理胚胎后产生的双胸（四翅）表型。前翅已被去除以显示异常的后胸。这个特殊的个体实际上来自没有暴露于乙醚仍产生这种表型的“同化”品系。(B) 应答乙醚处理的双胸样表型的选择和淘汰选择实验。图中显示了两个实验（红线和蓝线）。在这两个实验中，一组是双胸样性状选择，另一组是淘汰双胸样性状的选择（参考 Waddington 1956）。

Gibson 这样说过，“Waddington 的实验显示一些果蝇比其他果蝇对乙醚诱导的拟表型更敏感，但他却不知道为什么。我们的实验证明超级双胸基因的差异是这些形态变化的原因”。

遗传同化也见于鳞翅目（蝴蝶和蛾）。Brakefield 及其同事（1996）遗传同化了蝴蝶（*Bicyclus*）的适应性非遗传多型性的各种型（见图 25.9），Suzuki 和 Nijhout（2006）证明了烟草天蛾幼体（*Manduca sexta*）的遗传同化（图 26.17）。通过十分合理的选择步骤，Suzuki 和 Nijhout 繁殖出一种品系，即环境诱导的表型（幼体颜色）受到选择，并且最终在没有环境因素（温度冲击）的影响下也能产生出来。其中的遗传差异是热激在幼体中升高保幼激素效价的能力。因此，至少在实验室中遗传同化被证明发挥作用。

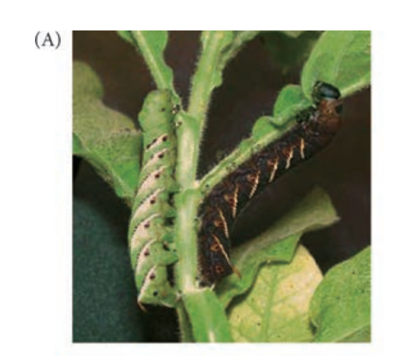
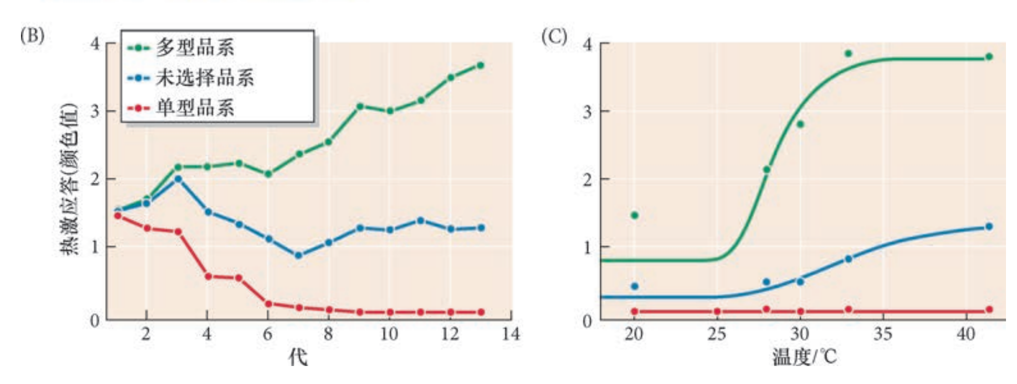


图 26.17　在烟草天蛾（*Manduca sexta*）黑色突变体中选择对温度介导的幼体颜色变化的影响。（A）天蛾幼体的两种颜色型。（B）受热激的幼体应答选择时的颜色变化。一组在热处理时绿色增强（多型；绿线），最“绿”的幼体被用来繁殖下一代，另一组（其他的黑色）在热处理时颜色变化减弱（单型；红线）。剩余的幼体没有被选择（蓝线）。颜色记录（0 代表全黑，4 代表全绿）显示幼体颜色区域的相对强度。单型品系在第 7 代后失去可塑性。（C）第 13 代天蛾被培养在 20 ～ 33℃稳定温度，并在 42℃被热激时的反应规范。多型性在大约 28℃时急剧上升（来自 Suzuki and Nijhout 2006；照片由 Fred Nijhout 提供）。



自然环境中的遗传同化　我们知道多种发育可塑性所产生的表型变异在后来会被基因固定下来的情况。第一种是蝴蝶的色素变异（Hiyama et al. 2012）。早在 19 世纪 90 年代（Standfuss 1896；Goldschmidt 1938），科学家就使用热激来干扰蝴蝶翼的色素沉积图式。在某些情况下，温度休克后发育出的颜色图式能模拟不同温度下生存的宗（生态型）的遗传控制图式。对丧服蛱蝶（*Nymphalis antiopa*；Shapiro 1976）、七叶树蝴蝶（*Precis coenia*；Nijhout 1984）和灰蝶（*Zizeeria maha*；Otaki et al. 2010）的进一步观察证实了温度变化能诱导表型的观点，这些表型模拟寒冷或温暖条件下生存的相关宗或物种的遗传控制图式。即便是与这些颜色变化相关的“本能性”行为表型（如交配和飞行）也能被拟表型化（见 Burnet et al. 1973；Chow and Chan 1999）。因此，一种环境诱导的表型在这个生物体范围的一部分可能变成标准的遗传诱导表型。

另一种遗传同化见于虎蛇（*Notechis scutatus*），这种蛇像很多鱼一样具有一个能被食物改变的头部结构。虎蛇能发育出一个大头来吞咽大的猎物。在既有大也有小的老鼠时，这种可塑性就显而易见。但是在某些岛屿，虎蛇的食物只有大的老鼠，那么这里的虎蛇在出生时就会有一个大头，并且不具有可塑性（图 26.18）。因此，Aubret 和 Shine（2009）声称，这显示了“遗传同化的明确实验证据，在几千年内，从表型的可塑性表达到发育稳态建立了一种适应性的性状”。

26.6.2　环境诱导的表型固定

环境诱导的表型固定至少有两个进化优势（West-Eberhard 1989，2003）。

1. 表型并不是随机的。环境引发新的表型，并且这个表型已经受到了自然选择的检验。这可能会为检验随机突变所产生的表型节省一个很长的时期。Garson 及其同事（2003）指出，尽管突变具有随机性，发育的参数可以解释形态进化的一些方向性。

2. 表型已经出现在种群的很大一部分。解释新表型的问题之一是那些表型的携带者与野生型相比都是一些“怪物”。这种突变，也许只出现在一个个体或一个家族，如何被建立起来并最终接管一个种群？发育的模型解决了这个问题：这个表型已经存在很长时间，并且表达它的能力在种群中普遍存在；它只需要被种群已有的修饰基因予以遗传稳定。



图 26.18　虎蛇的遗传同化。笼子右侧的虎蛇来自大陆种群。它们出生时具有一个小的头，但它们能通过可塑性使头变大，吞食大的猎物（如啮齿类和鸟类）。笼子左侧的虎蛇来自迁移到没有小猎物的岛屿的种群，这些岛蛇出生时有一个大的头（参考 Aubret and Shine 2009，照片由 F. Aubret 提供）。

鉴于这两种强有力的优势，最初通过发育可塑性所产生的型的遗传同化可能对新物种的起源有很大的贡献。生态学家 Mary Jane West-Eberhard 指出，“与人们的普遍看法相反，环境起始的新事物比突变诱导的新事物具有更大的进化潜能。所以，物种形成的遗传学能从基因表达变化以及基因频率和遗传隔离的研究中获益”。演化发育生物学是一个年轻的学科，环境诱导的新事物的相对重要性也正在被探索。

结束语

在 19 世纪后期，实验胚胎学从进化生物学分离出来，使自身逐渐成熟。但是，先驱者之一威罕 • 儒斯（Wilhelm Roux）预示，一旦真正成熟，胚胎学将重新回归进化生物学，以强有力的机制来帮助解释进化如何发生。进化是变化的学说，群体遗传学能鉴别和量化这种变化的动态。但是，儒斯意识到，进化生物学需要一个躯体构建的学说来提供一种使特异的突变成为可选择性表型的手段。

关于节肢动物的体形构型是如何产生的这一问题，Hughes 和 Kaufman（2002）在开始他们的研究时这样说过：

> 通过引用自然选择是正确的来回答这个问题是不够的。蜈蚣的尖牙和龙虾的爪赋予这些生物适当的优势。但是，这个谜的关键在于此：这些新事物首先起源于什么样的发育遗传变化?

这正是现代发育生物学已经并且在继续为我们提供一些答案的问题。

1. 发育生物学确定了变异的基础，即模块化、分子简约性和基因重复，如何使剧烈的发育变化能够发生而不使生物受到损害。
2. 发育生物学解释了遗传变化的四种方式，即异位发生、异时发生、异量发生和异型发生，如何在发育过程中产生新的和大规模的形态变异。

3. 发育生物学证明，表观遗传继承，即表观等位基因、共生生物和遗传同化，能提供可选择的变异并帮助它们在种群中传播。

在 1922 年，Walter Garstang 断言，个体发生（一个个体的发育）不能再现系统发生（进化史）。相反，个体发生创建系统发生，进化通过发育中的可遗传变化而产生。Garstang 说，“第一只鸟孵化自一个爬行动物的卵”。发育的模型被用于解释进化中的同源性和差异。的确，我们仍然以达尔文认可的两种方式去探讨进化，而且渐变演替仍然占据主导地位。然而，我们现在已经能用群体遗传学和发育生物学来回答进化的问题。通过整合群体遗传学和发育生物学，我们可以去解释生物多样性的建立和进化。

网络话题 26.8 **“智能化设计”和演化发育生物学** 演化发育生物学能解释很多“智能化设计”的支持者和其他神创论者认为不可能用进化予以解释的“难题”（如脊椎动物的眼和龟壳的进化）。

下一步的研究

有不同类型的新事物。我们了解最多的一种类型是在已有细胞类型中引入变化。在这里，进化对已经存在的变化进行修补。龟改变肋骨的生长方向、甲虫将形成外骨骼的程序用于翅等。但是，另一种类型的新事物是一些新的细胞类型的起源。目前的研究正在关注增强子和转录因子之间的相互作用，以探索这样的变化是否参与脊椎动物神经嵴细胞（见网络话题 26.5）和刺胞动物刺丝囊的起源。一系列极为有趣的研究涉及促使子宫蜕膜细胞（使子宫能够支持妊娠的那些细胞）进化的增强子。这些增强子有可能是被病毒引入哺乳动物谱系。如果是那样，这将把演化发育生物学与通过共生和病毒转染而获取新基因组联系起来。





开篇图的思考

新的事物是如何诞生的？解剖结构的进化变异来自发育中的变化。蝙蝠为我们提供了独特解剖特征与发育调节性基因表达变化相联系的极佳例证。在飞行哺乳动物的演化中，发育调节性基因表达的微小变化推动了前肢形态的显著变化。发育生物学家鉴别出来的变化对维持蝙蝠的前肢蹼（例如，骨形态发生蛋白的抑制物和成纤维细胞生长因子在蹼中的表达）、延伸指和缩短尺骨有关键作用（见 Sears 2008；Behringer et al. 2009）。这个果蝠（*Carollia perspicillata*）胚胎显示前肢蹼及其指的延伸（照片由 R. R. Behringer 提供）。

26 要点总结

发育与进化

1. 进化是发育中可遗传的变化所产生的结果。胚胎或幼体发育的变化能建立可被选择的新表型。
2. 达尔文关于“渐变演替”的概念解释了同源性和适应性。结构的类似性归因于共同系谱（同源性），而变异则源于自然选择（新环境条件的适应）。

3. 同源性是指生物或基因之间的类似性可以追溯到一个共同祖先的渐变。在一些情况下，某些基因在整个动物门特化相同的性状。
4. 进化能通过“修补”已有的基因而发生。发育在基因表达水平上对进化变异方式的影响有：位置的改变（异位发生）、时间的改变（异时发生）、量的改变（异量发生）、类型的改变（异型发生）。
5. 基因序列的变化能为同源异形基因提供具有显著发育作用的新特性。仅能发育出 6 只腿的昆虫解剖结构限制就是一个例子；子宫的进化则是另一个例子。
6. 发育过程中基因表达位置的变化似乎能解释龟壳、蛇肢缺失、羽毛出现的进化，以及不同形状的臼齿的进化。
7. 基因表达时间的变化在整个动物界对肢的形成有重要作用。
8. 基因表达量和时间的变化能解释达尔文雀的喙表型和人类脑体积的发育。
9. 同源异形基因数目的变化使这些基因行使新功能。同源异形基因数目的显著变化与进化中的主要转变相关联。
10. 新细胞类型的形成可能来自调控机制发生偏离的重复基因。同源异形基因及很多其他基因家族起始于经历了重复的单个基因。
11. 与结构和基因一样，信号转导途径也可以是同源的，同源的蛋白质以同源的方式进行组织。这些途径在不同的生物和相同的生物中能被用于不同的发育过程。
12. 发育的模块化使胚胎的一些部分发生变化而不影响其他部分。发育的这种模块化在很大程度上是因为增强子的模块化。
13. 已有基因和途径共选择（招募）以行使新的功能是建立新表型的根本机制。这样的情况包括肢发育信号途径用于形成翅的眼斑色素沉积、甲虫翅鞘的形成和海胆幼体骨骼的产生。
14. 发育限制阻止某些表型的出现。这种限制可以是物理限制（没有旋转的肢）、形态发生限制（中指不会比其他指短）或多效性限制（没有脊索就不会有神经管）。
15. 将已有的 DNA 元件改变成增强子、突变转录因子结合的 DNA 序列以废除一个增强子，或者通过转座子元件增加一个增强子序列或突变已有的增强子，这些都能引起新的基因转录。
16. 表观遗传继承系统包括表观遗传基因，DNA 甲基化的遗传图式能调节基因的表达。一个高度甲基化的基因能像一个遗传突变等位基因一样没有功能。
17. 共生生物通常对发育是必要的，这些生物的变异体能引起不同的发育方式。
18. 遗传同化是最初被环境诱导的特征，通过一个选择过程，在所有容许性环境下被基因型产生，这个现象在实验室中得到了很好的证明。
19. 演化发育生物学能够证明微小的遗传或表观遗传变化如何产生显著的表型变化和新的解剖结构。进化的群体遗传学模型与发育生物学模型的结合正在建立一个新的进化综合论，能解释宏观进化和微观进化现象。

拓展阅读

Abzhanov, A., W. P. Kuo, C. Hartmann, P. R. Grant, R. Grant and C. Tabin. 2006. The calmodulin pathway and evolution of beak morphology in Darwin's finches. *Nature* 442: 563–567.

Amundson, R. 2005. *The Changing Role of the Embryo in Evolutionary Thought: Roots of Evo-Devo.* Cambridge University Press, New York.

Carroll, S. B. 2006. *Endless Forms Most Beautiful: The New Science of Evo-Devo.* Norton, New York.

Cohn, M. J. and C. Tickle. 1999. Developmental basis of limblessness and axial patterning in snakes. *Nature* 399: 474–479.

Davidson, E. H. and D. H. Erwin. 2009. An integrated view of Precambrian eumetazoan evolution. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 74: 65–80.

Gilbert, S. F. and D. Epel. 2015. *Ecological Developmental Biology: Integrating Epigenetics, Medicine, and Evolution*, 2nd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Kuratani, S. 2009. Modularity, comparative embryology and evo-devo: Developmental dissection of body plans. *Dev. Biol.* 332: 61–69.

Lynch, V. J., A. Tanzer, Y. Wang, F. C. Leung, B. Gelelrsen, D. Emera and G. P. Wagner. 2008. Adaptive changes in the transcription factor HoxA-11 are essential for the evolution of pregnancy in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105: 14928–14933.

Merino, R., J. Rodríguez-Leon, D. Macias, Y. Ganan, A. N. Economides and J. M. Hurle. 1999. The BMP antagonist Gremlin regulates outgrowth, chondrogenesis and programmed cell death in the developing limb. *Development* 126: 5515–5522.

Rockman, M. V., M. W. Hahn, N. Soranzo, D. B. Goldstein and G. A. Wray. 2003. Positive selection on a human-specific transcription factor binding site regulating IL4 expression. *Curr. Biol*. 13: 2118–2123.

Shapiro, M. D., and 7 others. 2004. Genetic and developmental basis of evolutionary pelvic reduction in three-spine sticklebacks. *Nature* 428: 717–723.

Shubin, N., C. Tabin and S. B. Carroll. 2009. Deep homology and the origins of evolutionary novelty. *Nature* 457: 818–823.

Smith, K. 2003. Time's arrow: Heterochrony and the evolution of development. *Int. J. Dev. Biol*. 47: 613–621.

浏览 WWW.DEVBIO.COM

查看网络话题、科学家讲座、发育视频、发育辅导课，以及本章引用的参考文献的全部目录信息。

术 语 表

Abaxial muscle，远轴肌：源于生肌节侧部的肌细胞。

Acetylation，乙酰化：见 **Histone acetylation，组蛋白乙酰化**。

Achondroplasia，软骨发育不全：软骨细胞比正常情况过早停止增殖，造成短肢（软骨发育缺陷侏儒）的状态。通常是由于成纤维细胞生长因子受体 -3 基因的突变使该受体过早激活所导致。

Acron，顶节：节肢动物（包括昆虫）身体的前部；位于口前部，包括脑。

Acrosomal process，顶体突起：精子头部的指状突出，在海胆和很多其他物种的早期受精过程中通过肌动蛋白丝的聚合而延伸形成。它含有精子和卵子之间行使物种特异性识别的表面分子。

Acrosome（acrosomal vesicle），顶体（顶体泡）：帽状的细胞器，与精子细胞核共同形成精子的头部。含有蛋白质水解酶，能消化卵子周围的细胞外套，使精子能够接触卵细胞膜，与其融合。

Acrosome reaction，顶体反应：钙离子依赖的顶体与精子细胞膜融合，导致胞吐作用和水解酶的释放，使精子穿入卵的细胞外基质并使卵受精。

Actinomyosin contraction，肌动球蛋白收缩：在细胞内肌球蛋白附着于丝状肌动蛋白并沿其运动所产生的收缩力。例如，肌细胞的收缩、铰合点位置神经板细胞的顶端收缩。

Actinopterygian fish，辐鳍纲鱼：条鳍鱼，包括硬骨鱼。

Activin，激活蛋白（激活素，活化素）：转化生长因子 -β（TGF-β）超家族蛋白的成员；其中 Nodal 蛋白对特化中胚层的不同区域和区分脊椎动物的左 - 右轴有重要作用。

Adepithelial cell，近上皮细胞：在完全变态昆虫幼体的发育早期迁移到成虫盘的细胞；这些细胞在蛹期形成肌肉和神经。

Adhesion，黏附：细胞之间或细胞与细胞外基质之间的附着。后者为迁移细胞沿其运动提供表面。

Adult pluripotent stem cell，成体多能干细胞：成体生物中具有再生成体所有细胞类型的干细胞，如涡虫动物扁虫的未分化细胞。

Adult stem cell niche，成体干细胞微环境：容纳成体干细胞的微环境，调节干细胞的自我更新、存活，以及离开微环境的子代细胞的分化。

Adult stem cell，成体干细胞：器官成熟后其组织中存在的干细胞。成体干细胞通常参与替代和修复特定器官的组织，形成一组细胞类型。比较 **Adult pluripotent stem cell（成体多能干细胞）**；**Embryonic stem cell（胚胎干细胞）**。

Afferent，传入：携带到，例如，神经元将来自感觉受体细胞的信号（如来自耳的声波、来自视网膜的光信号、来自皮肤的触觉）带到中枢神经系统（脊髓和脑）；或管道将液体带到一个结构。

Aging，老龄化：生存和繁殖所需的生理功能随时间的退化。

Allantois，尿囊：羊膜动物中储存尿物和介导气体交换的胚外膜，来自原条尾端的胚脏壁。在哺乳动物，尿囊的大小取决于氮弃物被绒毛膜胎盘清除的程度。在爬行动物和鸟类，因为没有其他排除有害代谢副产物的途径，尿囊变成一个大囊。

Allometry，异速生长：一个生物的不同部分以不同的速度生长时发生的发育变化。

Alternative nRNA splicing，核 RNA 可变剪接：将不同的外显子剪接在一起，从一个基因产生不同类型的 mRNA，从而产生多种不同蛋白质的方式。

Amacrine neuron，无长突神经元：脊椎动物的神经视网膜中缺少长轴突的神经元。多数这样的神经元是抑制性神经元。见 **Neural retina（神经视网膜）**。

Ametabolous，非变态：昆虫发育的一种方式，没有幼体期，昆虫在一个过渡性预若虫期之后通过直接发育变为一个小的成体形式。

Amnion，羊膜：“水囊”。包裹和保护胚胎及其周围的羊水的一个膜。来自胚脏壁的两层：外胚层提供上皮细胞，中胚层形成结缔组织。

Amniote egg，羊膜卵：发育出胚外膜的卵，这些胚外膜（羊膜、绒毛膜、尿囊、卵黄囊）为发育中的胚胎提供营养和其他环境需求；是羊膜类脊椎动物的特征：爬行动物和鸟类的卵在母体外的壳内发育；而哺乳动物的卵发生了改变以在母体内发育。

Amniote，羊膜动物：胚胎发育出包围胚胎本体的羊膜（水囊）的脊椎动物类群。包括爬行动物、鸟类和哺乳动物。比较 **Anamniote**（**无羊膜动物**）。

Amniotic fluid，羊水：为发育中的胚胎行使“减震器”功能，是防止它干枯的分泌物。

Ampulla，壶腹：拉丁语，“长颈瓶”。哺乳动物输卵管的一段，位于子宫的远端并接近卵巢，是受精发生的位置。

Anagen，生长期：毛囊的生长期，在此期间毛发生长其长度。

Analogous，同功的：一些结构和（或）其对应成分的相似性是因为它们行使类似的功能，而不是来自一个共同祖先，如蝴蝶翼相对于鸟翼。比较 **Homologous**（**同源的**）。

Anamniote，无羊膜动物：鱼类和两栖类；在胚胎发育过程中不形成羊膜的脊椎动物类群。比较 **Amniote**（**羊膜动物**）。

Anchor cell，锚细胞：在秀丽隐杆线虫中连接上部的生殖腺和阴门前体细胞的细胞。如果锚细胞被破坏，阴门前体细胞则不能形成阴门，但会变成下皮的一部分。

Androgen，雄激素：雄性化物质，通常是一种类固醇激素，如睾酮。

Androgen insensitivity syndrome，雄激素不敏感综合征：XY 个体中编码结合睾酮的雄激素受体基因发生突变而导致的两性状态；这使个体具有雌性表型，但缺少子宫和输卵管，腹部具有睾丸。

Anencephaly，无脑畸形：前端神经孔未闭合所导致的先天缺陷（几乎总是致死）。前脑与羊水保持接触并最终退化，因此颅盖无法形成。

Aneuploidy，非整倍性：一个或多个染色体缺失，或染色体存在更多副本的状态。

Aneurigenic，无神经发生：没有任何神经支配。

Angioblast，成血管细胞：来自 *angio*，意为血管；以及 *blast*，意为一个快速分裂的细胞（通常是一个干细胞）。是血管的祖细胞。

Angiogenesis，新血管发生：血管发生所建立的初级血管网络被重塑和修整成为不同的毛细血管床、动脉和静脉。

Angiopoietin，血管生成素：介导内皮细胞和周细胞相互作用的旁分泌因子。

Animal cap，动物帽：两栖类的囊胚腔顶部，位于动物半球。

Animal hemisphere，动物半球：含有动物极的卵上半部分。在两栖类胚胎，含有少量卵黄的动物半球细胞快速分裂并变得具有活跃的运动性（“有生气”）。

Animal pole，动物极：卵子或胚胎中卵黄含量相对较少的极点；处在卵植物极的相反一端。

Anoikis，脱落凋亡：上皮细胞失去它们与细胞外基质的附着而发生的快速细胞凋亡。

Anorectal junction，肛直肠连接：在脊椎动物胚胎，内胚层与外胚层在肛门位置的接触。

Antennapedia complex，触角足复合物：果蝇 3 号染色体的一个区域，含有唇、触角足、性梳减少、畸形、口器足这几个同源异形基因，它们特化头部和胸节的特征。

Anterior heart field，前心区：心区中形成流出道（动脉锥和动脉干、右心室）的细胞。

Anterior intestinal portal（AIP），前肠门：发育中的初级消化管前肠区域的后端开口；它通向未来中肠区域，后者在这个时期与卵黄囊相接触。

Anterior necrotic zone，前端坏死区：发育中的四足动物肢前侧的一个程序性死亡区域，帮助肢成形。

Anterior neuropore，前神经孔。见 **Neuropore**（**神经孔**）。

Anterior visceral endoderm（AVE），前脏壁内胚层：鸡下胚层的哺乳动物对应物，与两栖类胚胎组织者的头部部分相似，它通过分泌 Nodal 的拮抗剂而形成前部区域。

Anterior-posterior（anteroposterior or AP）axis，前 - 后（前后或 AP）轴：确定头部相对于尾部的体轴（或口相对于肛门）。对于肢，这指从拇指（前部）到小指（后部）的轴。

Anti-Müllerian hormone（AMH），抗苗勒氏管激素：胚胎睾丸分泌的转化生长因子 - β 家族的旁分泌因子，诱导苗勒氏管上皮的凋亡和基底膜的破坏，阻止子宫和输卵管的形成。也称为抗苗勒氏管因子（AMF）。有时称为苗勒氏管抑制因子。

Anuran，无尾类：蛙和蟾蜍。比较 **Urodele**（**有尾类**）。

Aorta-gonad-mesonephros region（AGM），主动脉 - 生殖腺 - 中肾区：邻近腹主动脉的侧板胚脏壁间充质区域，产生造血干细胞。

Aortic arch，主动脉弓：最初作为对称排列和成对的血管，在成对的咽弓内发育并连接成对的腹（升）主动脉和背（降）主动脉。部分主动脉弓退化。

Apical constriction，顶端收缩：一个细胞顶端的束紧，由顶端边缘的肌动球蛋白复合物的局部收缩而引起。

Apical ectodermal fold（AEF），外胚层顶褶：发育中的鱼鳍间充质上部的外胚层，促进鳍条的发育；来自最初的外胚层顶嵴，在肢柱的近端图式化后变成条鳍鱼类的外胚层顶褶。

Apical ectodermal ridge（AER），外胚层顶嵴：沿肢芽远端形成的隆起，是肢发育过程中的主要信号中心。它的功能包括：①将其下部的间充质维持在可塑和增殖的状态，使肢保持近端到远端的线性生长；②维持那些建立前 - 后轴的分子的表达；③与特化前 - 后轴和背 - 腹轴的蛋白质相作用，使每个细胞获得如何分化的指令。

Apical epidermal cap（AEC），顶端表皮帽：在截断的蝾螈肢损伤表皮处形成，与肢正常发育过程中的外胚层顶嵴有类似的作用。

Apicobasal axis，顶 - 基轴：顶部到基部的轴。

Apoptosis，细胞凋亡：程序性细胞死亡。是清除非需要结构（如蛙的尾、雄性乳腺组织）、在特定的组织内控制细胞的数量、塑造复杂的器官（如腭、视网膜、指或趾、

心脏）的主动过程 。见 **Anoikis**（脱落凋亡）；**Necrotic zone**（坏死区）。

Aqueous humor，房水：浸泡脊椎动物眼的晶状体和提供稳定眼睛曲率所需压力的营养液。

Archenteron，原肠腔：胚胎的原始肠腔。在海胆，它由植物板陷入囊胚腔而形成。

Area opaca，暗区：还没有脱落深层细胞的鸟类胚盘层细胞的外环。

Area pellucida，明区：在大部分深层细胞脱落后，形成大部分胚胎本体的一层细胞厚度的鸡胚盘层中央区域。

Aromatase，芳香酶：将睾酮转化成雌二醇（一种雌激素）的酶。环境中过多的芳香酶与使用除草剂和其他化学物质有关联，并被认为能导致生殖异常（特别是在两栖类中引起去雄性化和雌性化）。

Arthrotome，生关节节：体节中部的间充质细胞，参与形成生骨节，变成椎骨关节、椎间盘和接近椎骨的肋骨部分。

Astrocyte，星形胶质细胞：见 **Astroglial cell**（星形胶质细胞）。

Astroglial cell（astrocyte），星形胶质细胞：多样化的星状（星形）神经胶质细胞，具有一系列功能，包括建立血脑屏障、应答中枢神经系统的炎症、支持突触的稳态和神经传递。

Autocrine interaction，自分泌相互作用：分泌旁分泌因子的细胞自身也应答这些因子。

Autonomous specification，自主性特化：卵裂球继承一种决定物，通常是来自卵细胞质的一组转录因子而进行细胞命运定型的一种方式，这些转录因子调节基因的表达以将细胞引导向特定的发育途径。

Autophagy，自噬：清除和替代损伤的细胞器和老年化细胞的细胞内体系。

Autopod，肢梢：脊椎动物肢的远端骨骼：腕骨和掌骨（前肢）、跗骨和跖骨（后肢）、指骨（“指”；手指和足趾）。

Axial protocadherin，中轴原钙黏着蛋白：表达在预定脊索细胞的一种原钙黏着蛋白，使脊索细胞与轴旁（形成体节）中胚层分离以形成脊索。最早发现于两栖类胚胎。见 **protocadherin**（原钙黏着蛋白）。

Axon，轴突：神经细胞体的纤细延伸。传递信号（动作电位）到中枢和外围神经系统的靶点。轴突的迁移对脊椎动物神经系统的发育有关键作用。

Axoneme，轴丝：一排 9 个双微管围绕两个中央单微管而组成的纤毛或鞭毛部分。作为引擎蛋白的动力蛋白附着于双微管，为纤毛和鞭毛的功能提供力量。

Basal disc，基盘：水螅的“足”，使动物黏附在石块或池塘植物的阴暗面。

Basal lamina，基底膜：表皮下特殊和紧密编织的细胞外基质层，主要由层粘连蛋白和 IV 型胶原蛋白组成。上皮细胞在一定程度上通过整联蛋白和层粘连蛋白之间的结合而与基底层黏附。有时称基板。

Basal layer（stratum germinativum），基底层（生发层）：胚胎和成体表皮的内层。这一层含有附着于基底膜的表皮干细胞。

Basal transcription factor，基础转录因子：特异结合在 CpG 富含位点的转录因子，形成一个“鞍状物”，能够招募和定位 RNA 聚合酶 II 以进行转录。

Basic fibroblast growth factor（Fgf2），碱性成纤维细胞生长因子（成纤维细胞生长因子 -2）：从脏壁中胚层产生成血液血管细胞所需的三种生长因子之一。见 **Angiopoietin**（血管生成素）；**Vascular endothelial growth factor，VEGF**（血管内皮细胞生长因子）。

β-Catenin，β- 联蛋白：作为钙黏着蛋白的锚定物，或作为 Wnt 途径诱导的转录因子蛋白。在整个动物门对胚层的特化有重要作用。

Bergmann glia，伯格曼胶质细胞：一种胶质细胞；在发育中的整个小脑神经上皮延伸出一个细的突出。

bHLH protein，碱性螺旋 - 环 - 螺旋蛋白：碱性螺旋 - 环 - 螺旋家族的转录因子，包括 scleraxis、成肌调节因子（如成肌分化因子、成肌因子 -5、成肌蛋白）及 c-Myc 等蛋白。

Bicoi，Bicoid 蛋白：在果蝇胚胎中对建立前 - 后极性至关重要的前部形态发生素。它作为一个转录因子激活前部特异的裂隙基因，并作为一个翻译阻遏物抑制后部特异的裂隙基因。

Bilaminar germ disc，二胚层胚盘：原肠胚形成前的羊膜动物胚胎；由上胚层和下胚层组成。

Bilateral holoblastic cleavage，两侧完全卵裂：主要见于被囊动物的卵裂图式，第一次卵裂面建立胚胎的左 - 右轴对称，每次后续的分裂都面向这一对称面。因此，第一次卵裂面一侧的半个胚胎是另一侧的镜像。

Bilaterian（triploblast），两侧对称动物（三胚层动物）：具有身体两侧对称和三个胚层（外胚层、中胚层、内胚层）特征的动物。包括除海绵、刺胞动物、栉水母动物和扁盘动物以外的所有动物类群。

Bindin，结合蛋白：海胆精子顶体突起上一个 30 500 Da 的蛋白质，在受精时介导精子和卵黄膜之间的物种特异性识别。

Bindin receptor，结合蛋白受体：海胆卵黄膜上的物种特异性受体，在受精过程中结合精子顶体突起上的结合蛋白。

Biofilm，生物膜：产生细胞外基质的微生物垫，如细菌。这些微生物垫调节很多海洋无脊椎动物的幼体附着。

Bipolar interneuron，双极中间神经元：神经视网膜中的神经元，位于光感受器（视杆和视锥）和神经节之间，将信号从光感受器传递到神经节细胞。

Bipotential（indifferent）gonad，双潜能（未分化）生殖腺：哺乳动物中来自生殖嵴的共同前体组织，雄性生殖腺和雌性生殖腺从这个组织发生偏离。

Bisphenol A(BPA)，双酚 A：用于塑料制品和阻燃剂的雌激素活性合成化合物。双酚 A 与啮齿动物中减数分裂缺陷、生殖异常和癌前病变相关。

Bithorax complex，双胸复合物：果蝇 3 号染色体的一个区域，含有特化第三胸节特征所需的**超级双胸**同源异形基因，以及参与腹节分节特征的 *abdominal A*(*abdA*) 和 *abdominal B*(*abdB*) 同源异形基因。

Bivalent，二价体：在第一次减数分裂前期过程中，一对同源染色体的四个染色单体以及它们的联会复合物。也称为四分染色体。

Blastocoel，囊胚腔：囊胚期胚胎充满液体的腔。

Blastocyst，胚泡：哺乳动物的囊胚。囊胚腔扩大，内细胞团位于滋养层细胞环的一侧。

Blastoderm，胚盘层：端黄卵（如鱼类、爬行动物和鸟类）的卵裂过程中在动物极形成的细胞层。因为集中在这些卵的植物极区域的卵黄防碍卵裂，只有动物极处少量无卵黄的细胞质能够分裂。胚盘层在发育过程中形成胚胎时围绕卵黄伸展。

Blastodisc，胚盘：鱼类、爬行动物和鸟类的端黄卵位于动物极的一个小区域，含有能够分裂和形成胚胎的无卵黄细胞质。卵裂后，胚盘变成胚盘层。

Blastomere，卵裂球：有丝分裂产生的一个卵裂期细胞。

Blastopore，胚孔：原肠胚形成起始的内陷点。在后口动物，这标志肛门的位置。在原口动物，这标志口的位置。

Blastula，囊胚：一个细胞球包围一个充满液体的内腔（即囊胚腔）组成的早期胚胎。

Blood island，血岛：脏壁中胚层的成血液血管细胞聚集体。通常认为这些血岛的内部细胞变成血液祖细胞，外部细胞变为成血管细胞。

BMP family，骨形态发生蛋白家族。见 **Bone morphogenetic protein**（骨形态发生蛋白）。

BMP4，骨形态发生蛋白 -4：骨形态发生蛋白家族的一个蛋白质，广泛用于神经发育；例如，三叉神经支配的靶器官所产生的骨形态发生蛋白 -4 使神经元差异性生长和分化。骨形态发生蛋白 -4 也参与骨的分化。见 **Bone morphogenetic protein**（骨形态发生蛋白）。

Bone marrow-derived stem cell(BMDC)，骨髓源性干细胞。见 **Mesenchymal stem cell**（间充质干细胞）。

Bone morphogenetic protein(BMP)，骨形态发生蛋白：转化生长因子 -β 超家族蛋白中的成员。最初通过它们诱导骨形成的能力被鉴别出来。骨形态发生蛋白具有高度的多功能性，能调节细胞分裂、凋亡、迁移和分化。

Bottle cell，瓶状细胞：两栖类胚胎原肠胚形成过程中的内陷细胞，每个细胞的主体向胚胎内部位移，但通过细长的颈部与外表面保持接触。

Brainbow，脑彩虹法：在细胞中触发不同组合和不同强度的各种荧光蛋白表达的遗传方法，用看似“彩虹”的各种可能颜色标记细胞，可被用在组织、器官或整个胚胎中识别单个细胞。

Brain-derived neurotrophic factor(BDNF)，脑源性神经营养因子：调节神经活性的旁分泌因子，通过诱导树突中神经信息的局部翻译对轴突的形成似乎有关键作用。脑源性神经营养因子对纹状体（调节运动的一个脑区域）中一组特定神经元的存活是必需的。

Branchial arch，鳃弓。见 **Pharyngeal arch**（咽弓）。

Brown adipose cell(brown fat)，棕色脂肪细胞（棕脂肪）：源于生皮肌节中央的脂肪细胞。不同于储存脂肪的白色脂肪细胞，棕色脂肪细胞产生热量。这些细胞含有大量的线粒体，将能量消耗成热量，而不合成 ATP。

Bulge，隆突：毛囊的一个区域，作为成体干细胞微环境。

Cadherin，钙黏着蛋白：钙依赖的黏附分子。与相邻细胞上其他钙黏着蛋白相互作用，对建立和维持细胞间连接、细胞类型的空间分离、动物形态的组织化有关键作用的跨膜蛋白。

Cajal-Retzius cell，Cajal-Retzius 细胞：紧邻软脑膜下部的新皮质中分泌 Reelin 蛋白的细胞。Reelin 蛋白引导新生神经元向软脑膜迁移。

Calorie restriction，热量限制：作为延长哺乳动物寿命的一种手段的饮食限制（以降低生育率为代价）。

Canalization，渠化性。见 **Robustness**（稳健性）。

Cancer stem cell hypothesis，癌干细胞假说：该假说认为肿瘤中的恶性部分或是逃离了微环境控制的成体干细胞，或是重新获得干细胞特性的更为分化的细胞。

Cap sequence，帽序列。见 **Transcription initiation site**（转录起始位点）。

Capacitation，获能：哺乳动物的精子变得能够使卵受精的一系列生理变化。

Cardia bifida，心脏断裂：形成两个独立心脏的状态，对胚胎进行操作或妨碍两个心内膜管融合的遗传缺陷所导致。

Cardiac neural crest，心脏神经嵴：从听（耳）基板延伸到第三体节的颅神经嵴亚区。心脏神经嵴发育成黑素细胞、神经元、软骨和结缔组织。它们也参与形成心脏大动脉（“流出道”）的肌肉 - 结缔组织壁，以及分隔肺循环和主动脉的隔膜。

Cardiogenic mesoderm，生心中胚层。见 **Heart field**（心区）。

Cardiomyocyte，心肌细胞：源于心区组织的心脏细胞，形成心脏的肌肉层，及其流入道和流出道。

Catagen，退化期：毛囊再生周期的退化阶段。

Catenin，联蛋白：将钙黏着蛋白锚定在细胞内的蛋白复合物。黏着蛋白 - 联蛋白复合物形成典型的黏着连接，帮助上皮细胞维持在一起，并通过结合细胞的肌动蛋白（微丝）细胞骨架将上皮细胞整合到一个机械单位。其中一种联蛋白——β- 联蛋白，也是一个转录因子。

Caudal，后部：指尾部。

Caudal intestinal portal（CIP），后肠门：发育过程中原始肠管后肠区域的前部开口；它通向未来的中肠区域，后者在这个时期仍与卵黄囊相连接。

Caudal progenitor zone，尾部祖细胞区。脊椎动物胚胎尾芽的一个区域，由局限性多能神经中胚层祖细胞组成。见 **Neuromesoderm progenitor（神经中胚层祖细胞）**。

Cavitation，空腔形成：在哺乳动物胚胎，滋养层细胞向桑椹胚分泌液体而产生囊胚腔的过程。滋养层细胞将钠离子（Na^+）泵入囊胚腔，通过渗透将水吸入，因此形成并扩大囊胚腔。

Cell adhesion molecule，细胞黏附分子：将细胞维持在一起的黏附分子。主要的一组黏附分子是钙黏着蛋白。见 **Cadherin（钙黏着蛋白）**。

Cell lineage，细胞谱系：一系列的细胞类型，从未分化的多能干细胞开始，经过各个时期的逐渐分化，形成终末分化的细胞类型。

Cellular blastoderm，细胞胚盘层：所有细胞围绕卵的卵黄核心排列成单细胞层外套的果蝇发育时期。

Central dogma，中心法则：对 DNA 编码的信息传递到蛋白质合成的解释：DNA 被转录成 RNA，RNA 再被翻译成蛋白质。

Central nervous system，中枢神经系统：脊椎动物的脑和脊髓。

Centrolecithal，中央卵黄卵：卵黄位于中央并进行表面卵裂的卵，如昆虫的卵。

Centromere，着丝粒：姐妹染色单体被动粒附着在一起的染色体区域。

Centrosome-attracting body（CAB），中心体吸引小体：在某些无脊椎动物的卵裂球中，使中心体不对称定位并招募特定 mRNA 的细胞结构，因此产生的子细胞大小和特性各不相同。

Cephalic，前部：指头部。

Cephalic furrow，头沟：果蝇原肠胚形成过程中形成的横沟，将未来头部（原头）与将要形成胸和腹的胚带分开。

Cephalic neural crest，头部神经嵴。见 **Cranial neural crest（颅神经嵴）**。

Chemoaffinity hypothesis，化学亲和力假说：Sperry 在 1965 年提出的假说，认为脑神经细胞获得独特的化学标记，使得它们能够互相区分开来，并且这些标记引导脑神经回路的组装和组织化。

Chemoattractant，趋化物：使细胞向其移动的生化物质。

Chemotaxis，趋化性：细胞沿一个化学梯度运动，例如，精子追随卵分泌的化学物质（趋化物）。

Chiasmata，交叉：减数分裂过程中同源染色体之间的附着点，这被认为是发生交换的区域。

Chimera，嵌合体：源于两个不同个体的混合细胞所组成的生物体。

Chimeric embryo，嵌合体胚胎：多种遗传来源的组织所形成的胚胎。

ChIP-Seq，染色质免疫沉淀 - 测序：一种实验方法，用于鉴别被特定转录因子结合或被含有特定组蛋白修饰的核小体结合的精确 DNA 序列。

Chondrocyte-like osteoblast，软骨样成骨细胞：进行早期膜内成骨的颅神经嵴细胞。这些细胞下调 Runx2 蛋白，并开始表达骨桥蛋白的基因，使它们具有类似于发育中的软骨细胞的表型。

Chondrocyte，软骨细胞。

Chondrogenesis，软骨发生：软骨的形成，软骨细胞从致密间充质的分化。

Chordamesoderm，脊索中胚层：脊索动物胚胎中形成脊索的中轴中胚层。

Chordate，脊索动物：在生命周期的某些时期具有脊索和背部神经索或神经管的动物。

Chordin，Chordin 蛋白：具有组织者活性的旁分泌因子。Chordin 直接结合骨形态发生蛋白 -4 和骨形态发生蛋白 -2，并阻止它们与其受体结合，因此诱导外胚层形成神经组织。

Chorioallantoic membrane，尿囊绒膜：在一些羊膜动物，如鸟类，尿囊膜中胚层与绒毛膜中胚层融合而形成。这个极其富含血管的包膜对鸟类发育至关重要，并且为骨形成将钙从卵壳运输到胚胎。

Chorion，绒毛膜：羊膜动物胚胎中对气体交换至关重要的胚外膜，由胚外的胚体壁形成。绒毛膜黏附于鸟类和爬行动物胚胎的卵壳，使卵与环境进行气体交换。在哺乳动物，它形成胎盘的胚胎（胎儿）部分。

Chorionic villus sampling，绒毛膜绒毛取样：在妊娠的第 8～10 周从胎盘取样以培养胎儿细胞，分析某些染色体、基因或酶的存在或缺失。

Chromatid，染色单体：有丝分裂前期染色体的一半，由复制的“姐妹”染色单体被动粒附着在一起所组成。

Chromatin，染色质：含有真核生物基因的 DNA 和蛋白质复合物。

Chromosome diminution，染色体消减：细胞分裂前的染色体片段化，这样产生的细胞仅保留初始染色体的一部分。染色体消减发生在马蛔虫卵裂过程中将要产生体细胞的那些细胞，而未来的生殖细胞不受这种现象的影响并维持完整的基因组。

Ciliary body，睫状体：位于神经视网膜和虹膜交界处，分泌房水的血管结构。

Cis-regulatory element，顺式调控元件：一些调控元件（启动子和增强子）与它们所调节的基因位于相同的 DNA 片段。

Cleavage，卵裂：在很多早期胚胎中，受精后发生的一系列快速有丝分裂；卵裂分隔胚胎但不增加其体积。

Cleavage furrow，卵裂沟：一个分裂细胞的细胞膜上由于微丝环紧缩而形成的沟。

Cloaca，泄殖腔：拉丁语，“下水道”。位于胚胎尾端的内胚层衬室，将变成肠和肾排泄物以及生殖腺产物的容器。两栖类、爬行动物和鸟类保留了这个器官以排泄配子以及液体和固体废物，哺乳动物的泄殖腔被一个隔膜分成泌尿生殖窦和直肠。

Cloacal membrane，泄殖腔膜：位于后肠尾端，由紧密并列的内胚层和外胚层而形成；是未来肛门的位置。

Cloning，克隆化。见 **Somatic cell nuclear transfer（体细胞核移植）**。

Clonogenic neoblast（cNeoblast），克隆性未分化细胞：迁移到损伤处并能再生组织的扁虫多能干细胞；形成扁虫的再生芽基。

cNeoblast，克隆性未分化细胞。见 **Clonogenic neoblast（克隆性未分化细胞）**。

Coelom，体腔：体壁中胚层和脏壁中胚层之间变成体腔的空间。在哺乳动物，体腔进一步划分成胸膜腔、围心腔和腹膜腔，分别包裹胸、心脏和腹部。

Coherence，相干性：符合其他研究结果的体系，因此更容易被接受的科学证据。

Cohesin protein，黏连蛋白：在减数分裂过程中围绕姐妹染色单体的蛋白质环，为减数分裂重组复合物的组装提供支架，抵抗纺锤体微管的拉力，因此在第一次减数过程中维持姐妹染色体的附着，并促进同源染色体的配对，使重组能够发生。

Collective migration，集体迁移：自我驱动的细胞互相施加方向性的协调力而进行的迁移，与独立迁移细胞，或者由于增殖或扦插所产生的组织推力而使一组细胞的运动相反。

Combinatorial association，组合性联结：在发育遗传学中，增强子含有结合转录因子的 DNA 区域，并且是转录因子的组合激活基因表达的原则。

Commensalism，共栖：对一个伙伴有益而对另一个伙伴既无益也无害的共生关系。

Commissureless（Comm），无连合蛋白：果蝇的一个内体蛋白，表达在穿越中线前的轴突；将 Robo 蛋白运送到溶酶体而不使它们表达在细胞膜。

Commitment，定型：描述一个细胞在还没有呈现出明显的生化和功能变化时，其发育命运已经受到限定的状态。

Committed stem cell，定型干细胞：具有变成相对少数细胞类型（局限性多能）或单一细胞类型（单能）潜能的局限性多能和单能干细胞。

Compaction，致密：细胞黏附分子上皮钙黏素介导的哺乳动物卵裂的独有特征。早期（大约 8 细胞）胚胎的细胞改变它们的黏附特性，变得互相紧密附着。

Comparative embryology，比较胚胎学：研究不同生物发育过程中解剖结构如何变化。

Compensatory regeneration，补偿性再生：分化的细胞进行分裂但仍保持它们的分化功能的一种再生形式（如哺乳动物的肝）。

Competence，反应能力：细胞或组织应答特定诱导信号的能力。

Conditional specification，条件性特化：细胞与其他细胞相互作用而获得各自命运的能力。一个细胞将变成什么在很大程度上受周围细胞分泌的旁分泌因子决定。

Cone，视锥：神经视网膜的颜色敏感光感受器细胞。

Congenital adrenal hyperplasia，类固醇 21- 羟化酶缺乏症：过量睾酮的存在而导致的雌性假两性畸形状态。

Congenital defect，先天性缺陷：一个个体在出生时携带的任何缺陷。先天缺陷可以是遗传的，或是环境导致的（例如，暴露于致畸性植物、药物、化学物质、辐射等）。它们也能是特发性的（也就是原因不清）。

Conjoined twin，联体双胎：共享身体某些部分的单卵双胞；他（她）们甚至能共享一个重要的器官，如心脏或肝。

Consensus sequence，共有序列：如果涉及内含子，这些序列位于内含子的 5′ 和 3′ 端，代表内含子的“剪接位点”。

Conserved dopamine neurotrophic factor（CDNF），保守性多巴胺神经营养因子：促进中脑多巴胺神经神经元存活的神经营养因子。见 **Neurotrophin（神经营养因子）**。

Contact inhibition of locomotion，运动接触抑制：阻止细胞沿着与其他细胞的接触面形成运动性伪足的机制。这些与其他细胞的细胞膜的相互作用阻止细胞在其他细胞上的“后向”运动，并引起细胞前缘的“前向”运动。

Context dependency，环境依赖性：一个体系中单个组分（如一个转录因子）的意义或作用依赖于它的环境。例如，在四足动物的肢关节形成时，相同的骨形态发生蛋白可以诱导细胞死亡或分化，取决于应答细胞的时期。

Conus arteriosus，动脉圆锥：心脏的流出道，与动脉干共同形成主动脉和肺动脉的基部。

Convergent extension，集中延伸：细胞的相互扦插使组织变窄，同时使组织向前运动的现象。这种机制被用于延伸海胆胚胎的原肠腔、被囊类胚胎的脊索、两栖类胚胎的内卷中胚层。这种运动很像高速公路上几条车道必须合并成一条时的车流。

Coordinated gene expression，协调性基因表达：很多不同的基因在一种特定细胞类型中同时表达。其基础通常是单个的转录因子（如 Pax6 蛋白）对多个不同的增强子序列都很关键；不同的增强子被差异性地“待发”，相同的转录因子与所有这些增强子的结合同时激活所有基因。

Cornified layer（stratum corneum），角化层（角质层）：角质形成细胞组成的表皮外层，角质形成细胞是已经死亡的角蛋白扁平囊，细胞核被挤到细胞的一端。这些细胞在生命中不断脱落并被新的细胞取代。

Corona radiata，放射冠：哺乳动物卵周围的卵丘细胞的最内层，紧邻透明带。

Corpora allata，咽侧体：在幼体换羽过程中分泌保幼激素的昆虫腺体。

Correlative evidence，关联性证据：基于事件的关联所得到的证据。如果用简单的助记符来描述，这是"发现它，失去它，移动它"中的"发现它"。见 **Gain-of-function evidence（获得功能证据）**；**Loss-of-function evidence（缺失功能证据）**。

Cortex，皮质：外部结构（与称为髓质的内部结构相反）。

Cortical cytoplasm，皮质细胞质：细胞中紧邻细胞膜下部的薄层胶状细胞质。在卵中，皮质含有高浓度的球状肌动蛋白分子，在受精过程中将聚合形成微丝和微绒毛。

Cortical granule reaction，皮质颗粒反应：在很多物种（包括海胆和大多数哺乳动物），这是多精入卵的慢阻断的基础。在海胆，多精入卵的机械阻断在精卵成功融合后大约 1min 内完成，来自卵皮质颗粒的酶参与形成一个受精膜，阻止其他精子入卵。

Cortical granule，皮质颗粒：卵皮质中来自高尔基体的膜结合结构；含有酶和其他成分。这些颗粒在受精时的胞吐作用与顶体反应中精子顶体的胞吐作用类似。

Cortical plate，皮质板：哺乳动物大脑发育过程中形成的细胞层，室管膜区神经元沿放射状胶质细胞突出外向迁移到邻近脑外表面的位置，它们将在这里建立新皮质的六层细胞。

CpG island，CpG 岛：富含 CpG 序列的 DNA 区域：一个胞嘧啶和一个鸟嘌呤被一个磷酸键连接。启动子通常含有这样的岛，转录也通常在其附近起始，这可能是它们结合了能够招募 RNA 聚合酶 II 的基础转录因子。

Cranial（cephalic）neural crest，颅（头部）神经嵴：未来头部区域的神经嵴细胞，它们通过迁移而产生颅面间充质，然后分化成软骨、骨骼、颅神经元、神经胶质和面部结缔组织。这些细胞也迁移到咽弓和咽囊以形成胸腺细胞、牙原基的成牙细胞、中耳和颌的骨骼。

Cranial sensory placode，颅感觉基板：脊椎动物胚胎头部形成的外胚层增厚区域，包括嗅（鼻）、听（耳）和晶状体（眼）基板，以及产生各种颅神经的感觉神经元的基板。也称颅外胚层基板。

Craniorachischisis，颅脊柱裂：整个神经管没有闭合。

Cranium，颅骨：脊椎动物的头骨，由脑颅（颅盖和颅底）和面颅（颌和其他咽弓衍生物）组成。

Cre-lox，Cre-lox 重组系统：位点特异的重组酶技术，能控制基因敲除和基因异常表达的时间和空间图式。

CRISPR，成簇的规律间隔短回文重复序列（Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat）：原核生物的一段 DNA 序列，转录成 RNA 时能作为向导识别病毒的 DNA 片段。它与 Cas9（CRISPR 结合酶 -9）一起被联合用于一种相对迅速和廉价的基因编辑方法。

Crossing over，交换：减数分裂过程中遗传物质的互换，一个染色单体上的基因与另一个染色单体的同源基因进行交换。

Crown cell，冠状细胞：原结细胞周边的细胞，对建立哺乳动物胚胎的左 - 右轴至关重要。每个冠状细胞具有单个的静纤毛，能感知原结细胞上动纤毛引起的液体从左到右的运动。这在冠状细胞中引起一连串事件，有助于维持 Nodal 蛋白在左侧的表达，而 Nodal 在左侧激活决定左侧和右侧的 *Pitx1* 基因的表达。

Crypt，隐窝：深的管状凹陷。例如，肠绒毛之间的肠隐窝。

Crystallin，晶体蛋白：透明的晶状体特异性蛋白。

Cumulus，卵丘：环绕哺乳动物卵的细胞层，由卵巢卵泡（颗粒）细胞组成，在卵从卵巢排出前为卵提供营养。卵丘细胞的最内层是放射冠，在排卵时与卵一起释放。

Cutaneous appendage，皮肤附属器：物种特异的表皮修饰，包括毛发、鳞、鳞甲、羽毛、蹄、爪和角。

CXCR4，趋化因子 CXC 亚家族受体 -4：间质衍生因子 -1 的受体。见 **stromal-derived factor 1（间质衍生因子 -1）**。

Cyclic adenosine 3′，5′-monophosphate（cAMP），环腺苷酸：多种细胞内信号级联的重要成分，是可溶的趋化物质，能引导盘基网柄菌属（*Dictyostelium*）的黏变形体聚集形成一个多细胞的黏聚菌（或伪原质团）。

Cyclin B，细胞周期蛋白 B：有丝分裂促进因子（促成熟因子）的大亚基，呈现出对调节细胞分裂有重要作用的周期性行为，在 DNA 合成期（S 期）积累，然后在细胞进入分裂时（M 期）降解。它调节有丝分裂促进因子的小亚基，即周期蛋白依赖性激酶。

Cyclin-dependent kinase，周期蛋白依赖性激酶：有丝分裂促进因子的小亚基，通过磷酸化多种靶蛋白而激活细胞分裂，其中包括组蛋白、核膜的核纤层蛋白和细胞质肌球蛋白的调节性亚基，使染色质凝缩、核膜解聚、有丝分裂纺锤体组织化。它需要细胞周期蛋白 B 以发挥功能。

Cyclooxygenase-2（COX2），环氧化酶 -2：从脂肪酸（花生四烯酸）产生前列腺素的酶。

Cyclopia，独眼：具有单个眼的先天性缺陷，由于编码 Sonic hedgehog 蛋白或胆固醇合成酶的基因突变所导致，也能被干扰胆固醇生物合成酶的化合物所诱导。

Cystoblast/cystocyte：成包囊细胞 / 包囊细胞：源于果蝇生殖干细胞的不对称分裂，一个成包囊细胞经过四次不完全胞质分裂的有丝分裂，形成一簇由环管连接的 16 个包囊细胞（一个卵细胞和 15 个抚育细胞）。

Cytokine，细胞因子：在细胞信号和免疫应答中有重要作用的旁分泌因子。在血液形成过程中，它们被造血位点的间质（间充质）细胞的细胞外基质收集和浓缩，参与血细胞和淋巴细胞的形成。

Cytokinesis，胞质分裂：细胞质分裂成两个子细胞。胞质分裂的机械因素是肌动蛋白和引擎肌球蛋白组成的微丝收缩环。每个子细胞获得一个来自细胞核分裂（核分裂）的细胞核。

Cytoneme，细胞突触桥：从一个细胞上延伸出的特殊伪丝状突出（有时会长达 100μm），与另一个产生旁分泌因子的细胞相接触。旁分泌因子可以结合到细胞突触桥末端的受体并沿整个细胞突触桥的长度被输送到靶细胞体。细胞突触桥也可以从产生旁分泌因子的细胞延伸出来，以接触一个靶细胞。

Cytoplasmic bridge，细胞质桥：相邻细胞之间的联结，来自不完全的胞质分裂，如配子发生时的状态。

Cytoplasmic determination factor，细胞质决定因子：一个细胞的细胞质中决定细胞命运的因子。例如，果蝇胚胎合胞体胚盘中沿前 - 后轴控制细胞命运的各种细胞质决定因子梯度。

Cytoplasmic polyadenylation-element-binding-protein（CPEB），细胞质多腺苷酸化元件结合蛋白：结合 mRNA 的 3′ 非翻译区并帮助控制翻译的蛋白质。被磷酸化后，它使 mRNA 上的多腺苷酸尾延长。

Cytotrophoblast，细胞滋养层：初始滋养层细胞组成的哺乳动物胚外上皮，它通过黏附分子与子宫内膜黏附，并且在一些具有侵袭性胎盘形成的物种，如小鼠和人类中分泌蛋白水解酶，使细胞滋养层进入子宫壁和重塑子宫血管，这样母体血液就能进入胎儿血管。

Dauer larva，持久幼体：秀丽隐杆线虫中代谢休眠的幼体期。见 **Diapause**（**滞育**）。

Decidua，蜕膜：胎盘的母体部分，由子宫的子宫内膜组成。

Deep cell，深层细胞：斑马鱼囊胚中位于包被层和卵黄合胞体层之间产生胚胎本体的细胞群体。

Deep homology，深度同源性：以同源的方式排列的同源蛋白质所组成的信号途径，在原口和后口动物中行使相同的功能。

Definitive endoderm，定型内胚层：在原肠胚形成过程中通过原条进入羊膜动物胚胎内部并取代脏壁内胚层的内胚层细胞，将主要形成卵黄囊、尿囊及脏壁侧板中胚层。

Delamination，分层：一个细胞层分成两个差不多平行的细胞层。

Delta protein，Delta 蛋白：Notch 蛋白的细胞表面配体；参与近分泌相互作用并激活 Notch 信号途径。

Dendrite，树突：从神经元传出的纤细和分支延伸（树状分支）。树突从其他细胞接收电脉冲。

Dendritic arbor，树状丛：某些神经元树突的广泛分支，如浦肯野神经元。

Dental lamina，牙板：颌上较宽的表皮增厚区域，后来分成一些独立的基板，它们与下部的间充质共同形成牙齿。

Dermal bone，真皮骨骼：在皮肤的真皮下部形成的骨骼，如大部分颅部和面部的骨骼。它们源自头部中胚层，或来自颅神经嵴源性的间充质细胞。

Dermal papilla，真皮乳头：毛发形成过程中间充质与上皮诱导的成分；是真皮成纤维细胞在表皮毛芽下部形成的小节，它刺激上部表皮基底干细胞的增殖，这些干细胞将产生毛干。

Dermatome，生皮节：生皮肌节的中央部分，产生背部真皮和肌细胞群体的前体。

Dermomyotome，生皮肌节：体节的背外侧部分，含有骨骼肌祖细胞（包括那些迁移到肢的细胞）和产生背部真皮的细胞。

Descent with modification，渐变演替（渐变式继承）：达尔文用继承自共同祖先来解释类型的统一性，用自然选择来解释适应特定环境条件的学说。

Determination，决定：特化后的命运定型时期；假定这种状态是不可逆的，命运决定时期是一个细胞或组织即便是处在一个非中性的环境里，也能够自主性分化。

Determination front，决定前沿：相当于体节形成的“时钟 - 波峰”模型中的“波峰”；体节边界在这个位置形成，受前体节中胚层自后（高）到前（低）的成纤维细胞生长因子梯度决定。

Determined，命运决定：定型到一个特定的命运。如果一个细胞即便在新的环境中仍然向它的命运发育成熟，它的命运便受到决定。见 **Determination**（**决定**）。

Deuterostome，后口动物：在后口动物类群（包括海胆、被囊动物、头索动物和脊椎动物），发育过程中的第一个开口（即胚孔）变成肛门，而第二个开口变成口（因此这个名称来自 *deutero stoma*，希腊语的“第二”和“口”）。比较 **Protostome**（**原口动物**）。

Development，发育：从一个单细胞产生一个复杂多细胞生物的渐进且连续的变化过程。发育见于胚胎发生和成体形态成熟的整个过程，并持续到老年化。

Developmental biology，发育生物学：研究胚胎和其他发育过程的学科，例如，旧细胞被新细胞取代、再生、变态、老龄化，以及疾病状态的发育（如癌症）。

Developmental constraint，发育限制：在进化中，发育中的生物体内部分子之间和模块之间可能的相互作用所产生的可能表型在数量和形式上的限制。

Developmental plasticity，发育可塑性：胚胎或幼体应答环境信息而改变形式、状态、运动或活动程度的能力（即表型变化）。

Dextral coiling，右旋：向右旋转。蜗牛的旋转圈开口于壳的右侧。

Diacylglycerol（DAG），二酰甘油： 在肌醇三磷酸途径中，从膜结合的磷脂酰肌醇 4，5- 双磷酸产生的第二信使，这个途径同时也产生肌醇三磷酸。二酰甘油激活蛋白激酶 C，然后蛋白激酶 C 激活一个将钠离子交换成氢离子的蛋白质，这使细胞内的 pH 升高。

Diakinesis，终变期： 希腊语，“分开”。在第一次减数分裂中标志前期 I 结束的时期，这时核膜破裂，染色体向中期板（赤道板）移动。

Diapause，滞育： 生物体的代谢休眠和不进食时期，在这个过程中发育和老龄化暂时停滞。这能发生在胚胎、幼体、蛹或成体时期。

Dickkopf，Dickkopf 蛋白： 德语，“大头”，“顽强”。直接与 Wnt 蛋白的受体结合并阻止 Wnt 信号的蛋白质。

Dictyate resting stage，核网期： 哺乳动物初级卵母细胞第一次减数分裂中延长的双线期。这个时期一直持续到排卵前，然后初级卵母细胞完成第一次减数分裂，作为次级卵母细胞被排出。

Diencephalon，间脑： 前脑的后部分区，将形成视泡、视网膜、松果体，以及接收视网膜输入的丘脑和下丘脑区域。

Diethylstilbestrol（DES），乙蔗酚（二乙基己烯雌酚）： 一个潜在的环境雌激素。孕妇摄入乙蔗酚会干扰雌性后代的性别和生殖腺发育，导致不育、生育率下降、异位妊娠、腺癌及其他影响。

Differential adhesion hypothesis，差异性黏附假说： 基于热力学原理解释细胞分选图式的模型。细胞通过相互接触而形成一个具有最小界面自由能量的聚集体，因此是最稳定的热力学图式。

Differential gene expression，差异性基因表达： 发育遗传学的一个基本原理：尽管一个个体的所有细胞都含有相同的基因组，不同细胞类型所表达的蛋白质却很不相同。差异性基因表达、差异性核 RNA 加工、差异性 mRNA 翻译及差异性蛋白质修饰都使细胞类型极度分化。

Differential RNA processing，差异性 RNA 加工： 通过不同组合的潜在外显子将 mRNA 前体剪接成确定不同蛋白质的信使。

Differentiation，分化： 一个未特化的细胞被特化成身体许多细胞类型之一的过程。

Differentiation therapy，分化疗法： 使用转录因子和其他分子使肿瘤细胞“正常化”的癌症治疗，也就是使癌细胞恢复分化而不是持续增殖。

Digestive tube，消化管： 从咽到泄殖腔贯穿全身的胚胎原始消化管。来自消化管的一些芽形成甲状腺、胸腺、甲状旁腺、肺、肝、胆囊和胰腺。

5α-Dihydrotestosterone（DHT），双氢睾酮： 5α- 酮类固醇还原酶 -2 作用于睾酮而产生的一种类固醇激素。双氢睾酮对雄性尿道、前列腺、阴茎和阴囊的雄性化是必需的。

Diploblast，双胚层动物： “两层”动物；它们只有内胚层和外胚层，但多数物种缺少真正的中胚层。包括栉水母和刺胞动物（水母、珊瑚、水螅和海葵）。比较 **Bilaterian**（两侧对称动物）。

Diplotene，双线期： 希腊语，“两条线”。第一次减数分裂中，前期 I 的第四和最后一个时期，这时联会复合物分解，两条同源染色体开始分离，但在正发生交换的交叉点仍保持附着。下一个时期是粗线期。

Direct development，直接发育： 缺少幼体期的胚胎发生，胚胎直接形成一个小的成体。

Discoidal cleavage，盘状卵裂： 端黄卵的不完全卵裂图式，细胞分裂仅发生在一个小的胚盘，如鸟类、爬行动物和鱼类。

Disruption，干扰： 外界因素（致畸因子），如植物、化学物质、病毒、辐射，或过热所造成的异常或先天缺陷。

Dissociation，分离： 一个模块的发育能力不同于其他模块。

Distal tip cell，远端顶细胞： 位于秀丽隐杆线虫每个生殖腺末端的一个不分裂细胞，通过抑制离它最近的生殖细胞进行减数分裂而维持这些细胞的有丝分裂。

Dizygotic twin，异卵孪生： “两个卵”。来自两个不同但大致同时受精事件的双胞胎。从遗传学的角度，这种“亲密关系”的双胞胎是全同胞（一级亲属）。比较 **Monozygotic twin**（同卵孪生）。

Dmrt1，双性和 mab-3 相关转录因子 -1： 在鸟类、蛙类和鱼类似乎能激活 *Sox9* 基因的蛋白质，这是脊椎动物中重要的雄性决定基因。它对维持哺乳动物的睾丸结构也是必需的。

DNA methylation，DNA 甲基化： 对不活跃基因的启动子的酶促甲基化，控制脊椎动物基因转录水平的方法。某些后面跟随有鸟嘌呤的胞嘧啶被甲基化，这样产生的甲基胞嘧啶稳定核小体并阻止转录因子的结合。这对 X 染色体失活和 DNA 印记有重要作用。

DNA-binding domain，DNA 结合域： 识别特定 DNA 序列的转录因子区域。

Dorsal blastopore lip，背胚孔唇： 两栖类胚胎原肠胚形成时内卷边缘区细胞的位置。迁移的边缘区细胞逐渐变成胚孔的背唇，转向内部，沿外部动物帽细胞的内表面（即囊胚腔顶）运动。

Dorsal closure，背向闭合： 将果蝇胚胎表皮的两侧带到背部表面的过程。

Dorsal mesentery，背系膜： 脏壁中胚层的衍生物，这个纤维性的膜将内胚层连接到体壁。在发育过程中参与肠的环化。

Dorsal root ganglion（DRG），背根神经节： 沿腹侧途径迁移并停留在生骨节的躯干神经嵴所产生的感觉性脊神经节。背根神经节的感觉神经元主要与脊髓背角的神经元连接。

Dorsal-ventral（dorsoventral or DV），背 - 腹（背腹或 DV）：确立背部（背）相对于腹部（胸腹）的平面。对于肢，这个轴指的是指关节（背部）和掌心（腹部）。

Dorsolateral hinge point（DLHP），背外侧铰合点：鸟类和哺乳动物神经管形成时，中线绞合点沿中线弯曲神经板后，位于神经板外侧使神经板两侧互相向内弯曲的两个绞合区域。

Dorsolateral pathway，背外侧途径：躯干神经嵴细胞在外胚层下部向背外侧运动而形成黑素细胞的途径。

Dosage compensation，剂量补偿：X 染色体编码的基因产物在雌性和雄性细胞中表达的平衡。这可以通过以下途径来实现：①加倍雄性 X 染色体的转录速度（果蝇）；②部分抑制两条 X 染色体；③在每个雌性细胞中失活一条 X 染色体（哺乳动物）。

Double-negative gate，双负阀：一个阻遏物“锁住”特化基因，这些基因能被这个阻遏物的阻遏物所“解锁”的机制（通过抑制阻遏物而激活）。

***Doublesex*（*Dsx*），双性基因：**在雄性和雌性中都具有活性的果蝇基因，但其 RNA 转录物以性别特异的方式被剪接成性别特异的转录因子：雌性特异转录因子激活雌性特异基因并抑制雄性发育；雄性特异转录因子抑制雌性特征并促进雄性特征。

Down syndrome，唐氏综合征：在人类，因为具有一个额外拷贝的 21 号染色体所导致的综合征；这包括面部肌肉变化、心脏和肠异常以及认知障碍。

Ductus arteriosus，动脉导管：第四左主动脉弓形成的血管，在哺乳动物作为胚胎（胎儿）肺动脉和降主动脉之间的分流器。正常情况下它在出生时闭合（如果没有闭合，会导致动脉导管未闭的病理状态）。

Duplication and divergence，重复和趋异：复制错误所产生的串联性基因重复。复制后，基因副本因随机突变而偏离，产生不同的表达图式和新的功能。

Dynein，动力蛋白：沿微管移动的引擎蛋白。它是一种水解 ATP 的酶，将释放的化学能转变成机械能。在纤毛和鞭毛中，动力蛋白附着于轴丝微管，使外围双微管活跃滑动而提供推进力，从而引起鞭毛或纤毛的弯曲。

Dysgenesis，发育异常：希腊语，“坏的开始”。意为有缺陷的发育。

20E，见 **20-Hydroxyecdysone（20- 羟基蜕皮激素）**。

Early allocation and progenitor expansion model，早期分配与祖细胞扩张模型：对肢近 - 远轴特化的渐进带模型的另一种解释，认为整个早期肢芽的细胞已经被特化，随后的细胞分裂简单地扩张这些细胞群体。

E-cadherin，上皮钙黏素：表达在上皮组织和哺乳动物早期胚胎细胞的一类钙黏着蛋白（E 代表上皮）。见 **Cadherin（钙黏着蛋白）**。

Ecdysone，蜕皮素：昆虫前胸腺分泌的类固醇激素，在外围组织被修饰后变成有活性的换羽激素——20- 羟基蜕皮激素。对昆虫的变态有关键作用。

Ecdysone receptor，蜕皮素受体：在昆虫中结合蜕皮素的核蛋白；被激素结合后，它与另一个结合 DNA 的蛋白质形成一个活性复合物，诱导蜕皮素应答基因的转录。与甲状腺激素受体有进化相关性，并且在结构上几乎完全一致。

Ecdysozoan，蜕皮动物：两个主要的原口动物类群之一；具有外骨骼周期性换羽的特征。节肢动物（包括昆虫和甲壳动物）和线虫动物（包括模式动物秀丽隐杆线虫）是两个突出的类群。见 **Lophotrochozoan（冠轮动物）**。

Ecomorph，生态型。见 **Morph（型）**。

Ectoderm，外胚层：希腊语，*ektos*（“外部”）。原肠胚形成后，或位于胚胎外部（两栖类），或位于胚胎背部（鸟类）的细胞。在三个胚层中，外胚层从神经管和神经嵴形成神经系统，也产生包裹胚胎的表皮。

Ectodermal appendage placode，外胚层附属器基板：表皮外胚层的增厚，参与形成非感觉性结构，如毛发、牙齿、羽毛、乳腺和汗腺。

Ectodermal appendage，外胚层附属器：表皮外胚层的特定区域与其下部的间充质通过一系列相互诱导所形成的结构；包括毛发、鳞、鳞甲（如龟壳盖）、牙齿、汗腺、乳腺和羽毛。

Ectodermal placode，外胚层基板：在胚胎中变成众多器官原基的表面外胚层增厚。包括颅基板、外胚层附属器基板。

Ectodysplasin（EDA）cascade，外胚层发育异常蛋白级联：皮肤附属器形成的特异性基因级联。外胚层发育异常蛋白功能失调的脊椎动物表现出一种称为无汗腺外胚层发育不良的综合征，主要以皮肤附属器（毛发、牙齿和汗腺）缺失或畸形为特征。

Efferent，输出：带走。通常是指神经元将中枢神经系统（脑和脊髓）的信息带出而通过周围神经系统对靶组织（如肌肉）产生作用，或指血管从一个结构中带走液体。比较 **Afferent（输入）**。

Efferent duct，输出小管：连接睾丸网和沃尔夫管（中肾管）的导管，由中肾的小管重塑而形成。

Egg chamber，卵室：果蝇卵母细胞在其中发育的卵巢管或卵管（每个卵巢有 12 个以上），含有 15 个互相连接的抚育细胞和 1 个卵母细胞。

Egg jelly，卵胶膜：很多物种中卵黄膜外侧的糖蛋白网络，最常用于吸引和（或）激活精子。

Embryo，胚胎：出生或孵化前的发育生物体。在人类，胚胎这个术语通常指发育的早期，从受精卵直到器官发生结束（妊娠的前 8 周）。此后直到出生前，发育的人体称为胎儿。

Embryogenesis，胚胎发生：从受精到孵化（或出生）的发育时期。

Embryology，胚胎学：从受精到孵化（或出生）的动物发育研究。

Embryonic axis，胚轴：胚胎中的任何一个方向性轴；包括前 - 后轴（头部 - 尾部）、背 - 腹轴（背部 - 腹部）和左 - 右轴。

Embryonic epiblast，胚胎上胚层：在哺乳动物，从内衬羊膜腔的上胚层细胞分离出来，参与形成胚胎本体的上胚层细胞。

Embryonic germ cell（EGC），胚胎生殖细胞：具有内细胞团特征的多能性胚胎细胞，来自被特定旁分泌因子处理以保持增殖状态的原生殖细胞。

Embryonic period，胚胎期：在人的发育中，胎儿期之前在子宫内发育的 8 个星期，此期间形成大多数器官。

Embryonic shield，胚盾：鱼类胚胎未来背部的局部增厚，其功能相当于两栖类的背胚孔唇。

Embryonic stem cell（ESC），胚胎干细胞：哺乳动物内细胞团卵裂球的多能干细胞，具有形成身体所有细胞类型的能力。

Emergent property，新质。见 **Level-specific property and emergence（层次特异性特征和突现）。**

EMT，见 **Epithelial-to-mesenchymal transition（上皮到间充质转换）。**

Enamel knot，釉结：牙齿发育的信号中心，神经嵴来源的间充质通过分泌图式化牙尖的旁分泌因子在上皮中诱导产生的一组细胞。

Endoblast，内胚层。见 **Secondary hypoblast（次级下胚层）。**

Endocardial cushion，心内膜垫：源于心内膜的脊椎动物心脏组织。在羊膜类，它形成隔膜，将初始管状心脏的心房室分隔成左右心房和左右心室；在两栖类，它将两个心房隔开（心室不分隔；在鱼类所有的腔室都不分隔）。心内膜垫也形成房室瓣。

Endocardium，心内膜：心脏腔室的内壁，来源于生心区。

Endochondral ossification，软骨内成骨：中胚层性的间充质变成软骨，软骨被骨取代的成骨过程。这是躯干和肢骨骼的特征。

Endocrine disruptor，环境激素：环境中具有激素活性的复合物（如乙底酚、双酚 S、芳香酶），对发育产生严重的有害作用，尤其是生殖腺。很多环境激素也是致肥剂（导致脂肪细胞增多和脂肪积累）。

Endocrine factor，内分泌因子：通过血液输送到靶细胞和组织而发挥作用的激素。

Endoderm，内胚层：希腊语，*endo*（"在内部"）。最内部的胚层；形成呼吸道、胃肠道和消化道的附属器官（如肝、胰腺）的上皮性内衬。在两栖类胚胎，植物半球的富含卵黄细胞变成内胚层。在羊膜类胚胎，内胚层在三个胚层的最腹部，也形成卵黄囊和尿囊的上皮。

Endometrium，子宫内膜：子宫的上皮性内壁。

Endosome，内（吞）体：被细胞通过胞吞作用而内化的膜结合小泡。将配体 - 受体复合物以内体的形式内化是旁分泌信号的普遍机制。

Endosteal osteoblast，骨内膜成骨细胞：内衬骨髓的成骨细胞，为吸引造血干细胞提供微环境，阻止细胞凋亡，并使造血干细胞处在可塑状态。

Endosymbiosis，内共生：希腊语，"生活在内部"。描述一个细胞生活在另一个细胞内，或一种生物生活在另一种生物体内的状态。

Endothelin，内皮缩血管肽：血管分泌的小肽，对血管收缩有作用，能引导一些神经嵴细胞的迁移，以及一些具有血管内皮素受体的交感神经元的延伸，例如，将颈上神经节靶向到颈动脉。

Endothelium，内皮：血管内壁的单层上皮细胞。

Energid，活质体：在果蝇胚胎，合胞体胚盘层外围的细胞核，以及与它们相联结的细胞骨架蛋白所形成的细胞质岛。

Enhancer，增强子：控制特定启动子的转录效率和速度的 DNA 序列。增强子结合特异的转录因子，这些转录因子通过招募一些能在这个区域解散核小体的酶（如组蛋白乙酰转移酶），或稳定转录起始复合物而激活基因。

Enhancer modularity，增强子模块化：根据增强子所结合的转录因子的组合，多个增强子使一个蛋白质在多种不同组织表达而在其他组织不表达的原则。

Enteric ganglion，肠神经节。见 **Parasympathetic ganglion（副交感神经节）。**

Enterocoely，肠体腔方式：从肠延伸中胚层囊而形成体腔的胚胎过程。这是多数后口动物的特征。见 **Schizocoely（裂体腔方式）。**

Enveloping layer（EVL），包被层：在斑马鱼中囊胚期转换时，胚盘层最表面细胞组成的细胞群体，形成一个单细胞层厚的上皮。包被层是一个胚外保护层，在发育后期脱落。

Environmental integration，环境整合：描述胚胎、胎儿或幼体周围的环境信息对它们发育的影响。

Ependyma，室管膜：脊髓管和脑室的上皮性衬壁。

Ependymal cell，室管膜细胞：脑室和脊髓管壁的上皮细胞；它们分泌脑脊液。

Eph receptor，促红细胞生成素产生肝细胞受体：肝配蛋白配体的受体。Eph 是促红细胞生成素产生肝细胞（**e**rythropoietin-**p**roducing **h**epatomocellular）的英文字头缩写。

Ephrin，肝配蛋白：近分泌配体。一个细胞的肝配蛋白配体与一个邻近细胞的肝配蛋白受体结合后，使信号同时传递到两个细胞。这些信号通常是一些吸引或排斥信号；肝配蛋白通常引导细胞迁移和确定细胞边界形成的

位置。肝配蛋白和肝配蛋白受体在血管、神经元、体节形成中发挥作用，也引导神经嵴细胞的迁移。

Epiallele，表观等位基因：能够世代继承的染色体结构变异体。在大多数已知的情况下，表观等位基因是能够影响种系，因此能被传递到子代的 DNA 甲基化图式差异。

Epiblast，上胚层：在进行原肠胚形成的鱼类胚胎中，这是进行外包的胚盘层增厚的边缘区的外层，或是羊膜动物（爬行动物、鸟类、哺乳动物）原肠胚形成过程中双胚盘层的上层。鱼类的上胚层含有外胚层前体，羊膜动物的上胚层含有胚胎本体（加上羊膜）的所有三个胚层的前体。上胚层也形成鸟类的绒毛膜和尿囊。

Epiboly，外包：作为一个整体（而不是独立）伸展，以包裹胚胎深层细胞的上皮层运动（通常是外胚层细胞）。外包能通过细胞分裂、细胞形状改变，或多层细胞相互扦插成较少的细胞层而产生。通常，三种机制都被使用。

Epibranchial placode，鳃上基板：在脊椎动物胚胎咽区形成的一个亚组的颅基板。它们产生三种颅神经的感觉神经元：面神经（VII）、舌咽神经（IX）和迷走神经（X）。

Epicardium，心外膜：心脏的外膜，形成冠状血管为心脏提供营养，来自心区。

Epidermal placode，表皮基板：外胚层附属器相关的表皮外胚层增厚。见 **Ectodermal appendage placode**（**外胚层附属器基板**）。

Epidermis，表皮：皮肤的外层，来自外胚层。

Epididymis，附睾：来自沃尔夫管——邻近睾丸的导管，连接输出小管和输精管。

Epigenesis，后成说：亚里士多德（Aristotle）和威廉·哈维（William Harvey）支持的观点，认为胚胎的器官在每一代都重新形成（从头开始）。

Epigenetics，表观遗传学：对作用于表型但不改变 DNA 碱基序列的机制研究。具体地说，这些变化通过改变基因的表达但不像突变那样改变基因的序列而在"基因之外"（在表观遗传上）发挥作用。表观遗传变化有时能传递到后代，这个现象称为表观遗传继承（epigenetic inheritance）。

Epimorphic regeneration，新建再生。见 **Epimorphosis**（**新建再生**）。

Epimorphin，表皮形态发生素：一个多功能性的蛋白质：在间充质细胞的膜上引导上皮的形态发生；表达在生骨节细胞时，它能将更多的前成软骨性生骨节细胞吸引到脊索和神经管区域，使这些细胞在那里形成椎骨。

Epimorphosis，新建再生：一种再生形式，成体结构经历去分化而形成相对未分化的细胞团，然后重新分化以形成新的结构（如两栖类肢的再生）。

Epiphyseal plate，骺板：长骨的近端和远端的软骨生长区，使骨骼持续生长。

Episomal vector，附加型载体：通常是来自病毒的基因传递载体，自身不整合到宿主的 DNA。

Epithelial-mesenchymal interaction，上皮与间充质相互作用：上皮细胞层与邻近间充质细胞相互作用的诱导。这些诱导的特性包括区域特异性（被放置在一起时，相同的上皮能根据间充质在胚胎中的初始位置发育出不同的结构）和遗传特异性（上皮的基因组限制它应答间充质信号的能力，也就是说这种应答具有物种特异性）。

Epithelial-to-mesenchymal transition（EMT），上皮到间充质转换：上皮细胞被转变成间充质细胞的有序系列性事件。在这种转换中，通常通过基部表面与基底膜相作用的极性静态上皮细胞变成迁移性间充质细胞，在新的位置侵入组织并形成器官。见 **Mesenchymal-to-epithelial transition**（**间充质到上皮转换**）。

Epithelium，上皮：上皮细胞在基底膜上紧密连在一起，以形成具有小量细胞外基质的一个层或一个管。

Equatorial region，赤道区：哺乳动物精子的顶体内膜与细胞膜之间的连接处。它在顶体反应时被暴露出来，是精子和卵子之间膜融合起始的位置。

Equivalence group，均等组：在线虫发育中，6 个阴门前体细胞组中的每个细胞都具有被锚细胞诱导的反应能力。

Erythroblast，成血红细胞：成熟自原红细胞并合成大量血红蛋白的细胞。

Erythrocyte，红细胞：进入血液循环，向组织输送氧的成熟红细胞。这些细胞不能进行分裂、RNA 合成或蛋白质合成。两栖类、鱼类和鸟类保留无功能的细胞核；哺乳类将核从细胞中挤出。

Erythroid progenitor cell，红系祖细胞：只能形成红细胞的命运定型的细胞。

Erythropoietin，促红细胞生成素：作用于红系祖细胞以产生能够形成红细胞的原红细胞。

ESC，胚胎干细胞。见 **Embryonic stem cell**（**胚胎干细胞**）。

Estrogen，雌激素：完成苗勒氏管（雌性）和沃尔夫管（雄性）的出生后发育所需的一组类固醇激素，包括 **estradiaol**（**雌二醇**）。在两性中对生育率都是必要的。

Estrus，动情期：希腊语，*oistros*（"狂暴"）。自发或定期排卵的雌性非人类哺乳动物受雌激素控制的卵巢周期，具有符合交配接受性的行为表现。也称为"发情"。

Euchromatin，常染色质：含有生物体中大多数基因的相对开放状态的染色质，大多数这样的基因都能被转录。比较 **Heterochromatin**（**异染色质**）。

Eukaryotic initiation factor-4（eIF4E），真核起始因子 -4E：对起始翻译很重要的一个蛋白质。它结合 mRNA 的 5′ 帽，参与形成介导 RNA 解旋的蛋白质复合物；将信使 mRNA 的 3′ 端带到 5′ 端附近，使 mRNA 结合核糖体并被核糖体识别。与真核起始因子 -4G 相作用，后者是使

mRNA 结合核糖体的支架蛋白。

Eukaryotic organism，**真核生物**：细胞中含有膜结合的细胞器的生物，包括一个含有染色体和进行有丝分裂的细胞核。可以是单细胞，或是多细胞。

Evolutionary developmental biology（**"evo-devo"**），**演化发育生物学**（**"演化-发育"**）：整合发育遗传学和群体遗传学以解释生物多样性起源的进化模型。

Exon，**外显子**：基因中编码蛋白质的一个或多个 DNA 区域。比较 **Intron**（**内含子**）。

External granular layer，**外颗粒层**：从生发神经上皮迁移到发育的小脑外表面所形成的小脑成神经细胞生发区。

External YSL（**eYSL**），**外卵黄合包体层**：鱼类胚胎卵黄合包体层的一个区域。外卵黄合包体层由进一步向植物极运动的卵黄合包体细胞核形成，在胚盘层扩张包围卵黄细胞时一直位于胚盘层边缘的前部。见 **Yolk syncytial layer**（**卵黄合包体层**）。

Extracellular matrix（**ECM**），**细胞外基质**：细胞分泌到它们邻近环境的大分子，在细胞之间的空隙形成一个非细胞物质的区域。细胞外基质由胶原蛋白、蛋白多糖以及多种特殊糖蛋白（如纤连蛋白、层粘连蛋白）组成。

Extraembryonic endoderm，**胚外内胚层**：鸟类上胚层或哺乳动物内细胞团所产生的下胚层细胞通过分层而形成，以内衬卵黄囊。

Extraembryonic vasculogenesis，**胚外血管发生**：卵黄囊中血岛的形成（也就是在胚胎的外部）。

Eye field，**眼场**：位于神经管前部分的区域，将发育成神经视网膜和色素视网膜。

Fasciculation，**成束生长**：在神经发育中，一个轴突黏附在另一个轴突上并利用它进行生长的过程。

Fast block to polyspermy，**多精受精的快阻断**：将电位升高到正水平以阻止额外精子与已受精的海胆卵融合的机制。这个过程在哺乳动物中没有得到证明。

Fate map，**命运图谱**：基于追踪胚胎特定区域的细胞谱系，以便将幼体或成体结构映射到它们起源的特定胚胎区域。这是将一个"应该是什么"的图谱叠印到将要发育成这些器官的结构。

Female pronucleus，**雌原核**：卵子的单倍体细胞核。

Fertilization，**受精**：雄性和雌性配子的融合，跟随着单倍体配子细胞核的融合以恢复物种特征的全套染色体组，并在卵细胞质中启动那些使发育得以进行的反应。

Fertilization cone，**受精锥**：受精过程中卵子和精子融合位置的卵表面延伸。它通过肌动蛋白的聚合而形成，提供一种扩张卵子和精子之间细胞质桥的连接，使精子细胞核和近端中心粒进入卵。

Fertilization envelope，**受精膜**：皮质颗粒释放后从海胆卵的卵黄膜形成。皮质颗粒释放的糖胺聚糖吸水以扩张细胞膜和受精膜之间的空隙。

Fetal alcohol syndrome（**FAS**），**胎儿酒精综合征**：出生自酗酒的母亲的新生儿状态，具有小头和特殊的面部特征，以及具有神经元和神经胶质细胞迁移缺陷的较小的脑。这是最普遍的先天性智力低下综合征。另一个术语是 **fetal alcohol spectrum disorder**（**FASD**），即**胎儿酒精谱系障碍**，被用来描述出生前酒精暴露对儿童行为不太明显的影响。

Fetal period，**胎儿期**：在人的发育中，跟随胚胎期的时期，从第 8 周结束后到出生；这是器官已经基本形成之后，整体生长和塑形正在发生的时期。

α-Fetoprotein，**甲胎蛋白**：在雄性和雌性哺乳动物胎儿中结合和失活胎儿雌激素，但对睾酮不起作用的蛋白质，它被证明在啮齿类动物中对脑的正常性别分化有关键作用。

Fetus，**胎儿**：胚胎期和出生之间的哺乳动物发育时期，以生长和塑形为特征。在人类，这是从妊娠第 9 周到出生的时期。

Fibroblast growth factor 9（**Fgf9**），**成纤维细胞生长因子-9**：参与哺乳动物睾丸发育的生长因子，刺激睾丸支持细胞的增殖和分化，并在这些细胞中维持 *Sox9* 基因的表达。它能抑制引导卵巢发育的 Wnt4 蛋白信号。它也参与后肾的发育，促进肾单元干细胞群体的发育。见 **Fibroblast growth factor**（**成纤维细胞生长因子**）。

Fibroblast growth factor receptor（**FGFR**），**成纤维细胞生长因子受体**：受成纤维细胞生长因子激活的一组受体酪氨酸激酶，在应答细胞中引起休眠激酶的激活和某些蛋白质（包括其他成纤维细胞生长因子受体）的磷酸化。

Fibroblast growth factor（**FGF**），**成纤维细胞生长因子**：调节细胞增殖和分化的旁分泌因子家族。

Fibronectin，**纤连蛋白**：众多类型细胞合成并分泌到细胞外基质的极大糖蛋白二聚体（460kDa）。作为广谱的黏附分子，将细胞互相连接在一起或连接到其他基质，如胶原蛋白和蛋白聚糖，并为细胞迁移提供基质。

Filopodium，**丝足**：含有微丝的长细突出；细胞能通过延伸、附着和收缩丝足进行运动。有很多产生丝足的细胞，例如，海胆胚胎的迁移性间充质细胞、神经外向生长的生长锥、血管形成中的顶端细胞。

Fin bud，**鳍芽**：鱼类胚胎中产生鳍的组织芽；与四足动物的肢芽具有同源性。

First polar body，**第一极体**：初级卵母细胞完成第一次减数分裂时产生的一个微小细胞，这次分裂产生的大细胞是次级卵母细胞，继承了大多数细胞质，作为第一极体的微小细胞最终被丢失。两个细胞都是单倍体。

Flagellum，**鞭毛**：细胞的长和运动性延伸，含有一个中央轴丝，由微管以 9+2 的排列方式（9 个外围双联管和 2 个中央单微管）形成。鞭毛的抽打动作（"鞭打"）产生推进力，如精子的尾部。

Floor plate，**底板**：对建立背-腹极性很重要的神经管腹部区域。受邻近的脊索分泌的 Sonic hedgehog 蛋白诱导。

它变成一个次级信号中心，也分泌 Sonic hedgehog 蛋白，建立一个腹部浓度高的梯度。

Fluorescent dye，荧光染料：一些复合物，如荧光素和绿色荧光蛋白，被紫外光激发时发出特定波长的亮光。

Focal adhesion，黏着斑：迁移的细胞中细胞膜与细胞外基质附着的部位，受肌动蛋白、整联蛋白和细胞外基质之间的连接所介导。

Follicle，滤泡（囊）：一小组细胞围绕一个腔。例如，哺乳动物的卵泡由颗粒细胞和卵泡膜细胞围绕一个卵细胞所组成；毛囊和羽毛囊分别产生毛发或羽毛。

Follicle-stimulating hormone（FSH），促卵泡激素：哺乳动物垂体分泌的肽激素，能促进卵泡发育和精子发生。

Follicular stem cell，毛囊干细胞：毛囊隆突微环境的局限性多能成体干细胞。它们形成毛干和毛鞘。

Follistatin，促卵泡激素抑释素：具有组织者活性的旁分泌因子，是激活蛋白和骨形态发生蛋白的抑制物，能使外胚层变成神经组织。

Foot activation gradient，足部激活梯度：似乎是水螅中的一个梯度，在基盘的浓度最高，使基盘只在一个位置形成。

Foramen ovale，卵圆孔：在哺乳动物胎儿的心脏，分隔右心房和左心房的隔膜上的开口。

Forkhead transcription factor，叉头框转录因子：对将要形成肝的内胚层尤为重要的转录因子，如 Fox 蛋白、肝细胞核因子 -4α，它们在肝中帮助激活肝特异性基因周围的调控区域。

Forward genetics，正向遗传学：利用能够引起随机突变的因素处理生物体，然后筛选特殊的表型的遗传学技术。比较 **Reverse genetics（反向遗传学或反求遗传学）**。

Frizzled，Frizzled 蛋白：Wnt 蛋白家族旁分泌因子的跨膜受体。

Frontonasal process，额鼻突：源于中脑和后脑的第 1 和第 2 菱脑节的神经嵴细胞所形成的颅部突出，将形成额、鼻的中部和初发腭。

G protein，G 蛋白：结合 GTP 并被 GTP 修饰酶（如 GTP 酶）激活或失活的蛋白质，对受体酪氨酸激酶信号途径和细胞骨架维持有重要作用。

Gain-of-function evidence，获得功能证据：一种强有力的证据，第一个事件的起始导致第二个事件的发生，即便是在通常情况下这两种事件在这个位置和时间都不发生。这是发育生物学研究方法的助记符“发现它，失去它，移动它”中的“移动它”。见 **Correlative evidence（关联性证据）**；**Loss-of-function evidence（缺失功能证据）**。

Gamete，配子：一类特殊的生殖细胞，有性生殖亲本通过它们将染色体传递到后代；是一个卵子或一个精子。

Gametogenesis，配子发生：配子的产生。

Ganglion，神经节：成簇的神经元细胞体，它们的轴突形成神经。复数是 ganglia。

Gap gene，裂隙基因：表达在较为广泛（大约 3 个体节的宽度）和部分重叠区域的果蝇合子基因。裂隙基因突变体中缺少身体的大部分区域（多个邻近的体节）。

Gastrula，原肠胚：经历原肠胚形成的胚胎时期，具有三个胚层，它们相互作用以产生身体的器官。

Gastrulation，原肠胚形成：胚胎的卵裂球之间相对运动，使胚胎的三个胚层得以形成的过程。

GDNF，见 **Glial-derived neurotrophic factor（胶质细胞源性神经营养因子）**。

GEF，见 **GTP exchange factor（鸟苷三磷酸交换因子）**；**RTK pathway（受体酪氨酸激酶途径）**。

Gene regulatory network（GRN），基因调控网络：转录因子和它们的增强子之间相互作用所产生的图式，这能帮助确定发育的方向。

Genetic assimilation，遗传同化：最初因应答某些环境影响而产生的一种表型特征，经过一系列选择被基因型所继承的过程，以至于这种特征即便是没有产生该表型所需的初始环境影响也能形成。

Genetic heterogeneity，遗传异质性：不同基因的突变产生类似的表型。

Genital disc，生殖盘：产生雄性和雌性外生殖器的果蝇幼体区域。雄性和雌性外生殖器来自生殖盘的不同细胞群体，受旁分泌因子的诱导。

Genital ridge，生殖嵴：脏壁中胚层及其下部中肾内缘的居间中胚层间充质的增厚；形成睾丸或卵巢。也称为 germinal ridge（生殖嵴）。见 **germinal epithelium（生殖上皮）**。

Genital tubercle，生殖结节：在哺乳动物外生殖器分化过程的未分化期，位于泄殖腔膜前部的结构。它将形成雌性胎儿的阴蒂或雄性的阴茎。

Genome，基因组：单个生物体的全部 DNA 序列。

Genomic equivalence，基因组均等性：一个生物体的每一个细胞与所有其他细胞都具有相同基因组的学说。

Genomic imprinting，基因组印记：哺乳动物中只有精子来源或卵子来源的等位基因能够表达的现象，有时是由于精子或卵子发生过程中一个等位基因受 DNA 甲基化而失活。

Germ band，胚带：果蝇胚胎原肠胚形成过程中由于集中和延伸而沿腹中线形成的一组细胞，包括将要形成胚胎躯干的细胞，以及成体的胸和腹的细胞。

Germ cell，生殖细胞（种质细胞）：一组被搁置起来以行使生殖功能的细胞；生殖细胞将变成生殖腺（卵巢和睾丸）中的细胞，经过减数分裂而产生配子。比较 **Somatic cell（体细胞）**。

Germ layer，胚层：原肠胚形成过程中在三胚层生物胚胎中产生的三层之一，即外胚层、中胚层、内胚层；或在双胚层生物胚胎中产生的两层之一，即外胚层和内胚层，

这些胚层将形成身体中除生殖细胞以外的所有组织。

Germ line，**种系**：形成生殖细胞的细胞谱系，与体细胞分离，存在于很多动物，如昆虫、线虫和脊椎动物。种系的特化可以通过卵细胞质区域的决定物而自主发生，也可以在后期通过邻近细胞的诱导而发生。

Germ plasm，**生殖质（种质）**：一些物种（包括蛙、线虫和果蝇）卵中的细胞质决定物（mRNA 和蛋白质），它们自主性地特化原生殖细胞。

Germ plasm theory，**种质学说**：魏斯曼（Weismann）在 1888 年提出的首个可验证的细胞特化模型，认为胚胎中的每个细胞都能自主性发育。染色体被假定以不同染色体决定物进入不同细胞的方式进行划分，而不是均等分配。只有那些注定变成生殖细胞（配子）的细胞核被假定能继承所有不同类型的决定物，而所有其他细胞仅将继承一部分初始决定物。

Germ ring，**胚环**：斑马鱼胚胎的胚盘层覆盖大约一半卵黄细胞时，深层细胞的边缘区增厚的细胞环。它由一个表层（上胚层）和一个内层（下胚层）组成。

Germ stem cell（GSC），**生殖干细胞**：雌性果蝇中产生卵母细胞的干细胞。

Germarium，**原卵区**：在雌性果蝇中，卵巢管前端区域的微环境，含有生殖干细胞和多种体细胞类型。

Germinal crescent，**生殖新月**：鸟类和爬行动物胚盘层明区前部分的区域，迁移中的内胚层将下胚层位移到这个区域。它含有原生殖细胞（生殖细胞的前体），在后期通过血管迁移到生殖腺。

Germinal epithelium，**生殖上皮**：双潜能性生殖腺的上皮，来自脏壁中胚层，将形成生殖腺的体细胞（非生殖细胞）部分。

Germinal neuroepithelium，**生发神经上皮**：组成初始神经管的一层细胞厚的快速分裂神经干细胞层。

Germinal ridge，**生殖嵴**。见 **Genital ridge（生殖嵴）**。

Germinal vesicle breakdown（GVBD），**生发泡破裂**：卵子发生过程中减数分裂恢复时初级卵母细胞的核膜（生发泡）解体。

Germline stem cell，**生殖系干细胞**：在果蝇中，极细胞（原生殖细胞）衍生物通过不对称分裂而产生另一个干细胞和一个称为成包囊细胞的未分化子细胞，这个成包囊细胞进而产生 1 个卵细胞和 15 个抚育细胞。

GFP，见 **Green fluorescent protein（绿色荧光蛋白）**。

Glia，**神经胶质细胞**：源于神经管的中枢神经系统支持细胞，以及源于神经嵴的周围神经系统支持细胞。

Glial guidance，**神经胶质导向**：在发育的哺乳动物脑中对定位年轻神经元有重要作用的机制（例如，颗粒神经元前体在小脑中沿伯格曼神经胶质细胞的长突出迁移）。

Glial-derived neurotrophic factor（GDNF），**胶质细胞源性神经营养因子**：结合 Ret 受体酪氨酸激酶的旁分泌因子。肠间充质产生的胶质细胞源性神经营养因子吸引迷走神经嵴和骶神经嵴细胞，后肾间充质产生的胶质细胞源性神经营养因子诱导输尿管芽的形成和分支。

Glochidium，**钩介幼体**：一些淡水双壳类软体动物的幼体，如珠蚌；具有一个像微小猎熊夹的壳，用于附着鱼的鳃或鳍。这个幼体以鱼的体液为食，直到它掉下来变态成为一个成体蚌。

Glycogen synthase kinase 3（GSK3），**糖原合成酶激酶 -3**：靶向 β- 联蛋白的降解。

Glycosaminoglycan（GAG），**糖胺聚糖**：直链的复杂酸性多糖，由许多重复的二糖单位组装形成。这是蛋白聚糖的碳水化合物成分。

Gonadotropin-releasing hormone（GRH；GnRH），**促性腺（激）素释放激素**：下丘脑释放的肽激素，刺激脑垂体释放促性腺激素（促卵泡激素和促黄体素），这两种激素对哺乳动物的配子发生和类固醇生成是必需的。

Gonialblast，**精原母细胞**：在雄性果蝇中，一个命运定型的祖细胞，它分裂变成精子的前体。

Gonocyte，**生殖母细胞**：进入雄性胚胎生殖嵴并被纳入生殖索的哺乳动物原生殖细胞。

Granule cell，**脑颗粒细胞**：来自发育中的小脑外颗粒层的成神经细胞。颗粒神经元迁移回室管膜区，形成一个称为内颗粒层的区域。

Granulosa cell，**卵泡细胞（颗粒细胞）**：胎儿卵巢的皮质上皮细胞，卵泡细胞包裹将要变成卵的单个生殖细胞，并将与卵泡膜细胞共同形成包裹生殖细胞和分泌类固醇激素的滤泡。随着卵母细胞在排卵前的成熟，卵泡细胞的数量增多并围绕卵母细胞形成同心层。

Gray crescent，**灰色新月**：灰色的内部细胞质带，在皮质细胞质相对于内部细胞质旋转后出现在两栖类 1 细胞期胚胎的边缘区。原肠胚形成起始于这个位置。

Gray matter，**灰质**：脑和脊髓富含神经元细胞体的区域。比较 **White matter（白质）**。

Green fluorescent protein（GFP），**绿色荧光蛋白**：一些水母中自然存在的蛋白质。它在紫外光的激发下能发出亮的绿色荧光。绿色荧光蛋白的基因在发育和其他研究中被广泛用于细胞的转基因标记，表达绿色荧光蛋白的细胞因为发出绿色的亮光而很容易被识别。

GRN，见 **Gene regulatory network（基因调控网络）**。

Growth and differentiation factor（GDF），**生长分化因子**。见 **Paracrine factor（旁分泌因子）**。

Growth cone，**生长锥**：神经轴突的运动性顶端；能使神经外向生长。

Growth factor，**生长因子**：结合一个受体并启动信号以促进细胞分裂和生长的分泌性蛋白。

Growth plate closure，**生长板（骺板）闭合**：使骨生长在青春期后停止。高水平的雌激素诱导肥大软骨细胞的凋

亡，刺激形成骨的成骨细胞侵入生长板。

GTP exchange factor（GEF），鸟苷三磷酸交换因子：在受体酪氨酸激酶信号途径中，这个因子交换一个磷酸基团，将结合在 G 蛋白上的 GDP 转换成 GTP，因此激活 G 蛋白。见 **RTK pathway（受体酪氨酸激酶途径）**。

GTPase-activating protein（GAP），GTP 酶激活蛋白：将 Ras 结合的 GTP 水解成 GDP，使 G 蛋白 Ras 迅速恢复到无活性状态的蛋白质。Ras 通过受体酪氨酸激酶途径被激活。

Gurken，Gurken 蛋白：受 *gurken* 基因编码的蛋白质。Gurken 的信使在果蝇卵巢的抚育细胞中合成并被转运到卵母细胞，它在卵母细胞中沿前 - 后梯度翻译成蛋白质。这个蛋白使最接近卵细胞核的滤泡细胞后部化；这个过程在一定程度上建立卵和未来胚胎的前 - 后轴。

Gynandromorph，雌雄嵌合体：希腊语，*gynos*（雌），*andros*（雄）。一个动物的部分躯体是雄性，而其他部分呈雌性。比较 **Hermaphrodite（雌雄同体）**。

Gyrencephalic，多脑回：大脑的皮质有大量的褶皱，如人和鲸鱼。比较 **Lissencephalic（无脑回）**。

Hair follicle stem cell，毛囊干细胞。见 **Follicular stem cell（毛囊干细胞）**。

Haltere，平衡棒：双翅蝇（例如果蝇）第三胸节的一对平衡器。

Haptotaxis，趋触性：细胞在基质上的方向性迁移，趋向黏附性高的梯度。

Hatched blastula，孵化囊胚：动物半球的细胞合成和分泌能够消化受精膜的孵化酶后，自由游动的海胆胚胎。

Head activation gradient，头部激活梯度：水螅中的形态发生梯度，在垂唇处浓度最高，使头部形成。

Head mesoderm，头部中胚层：躯干中胚层前部的中胚层，由未分节的轴旁中胚层和索前中胚层组成。这个区域提供头部间充质，形成头部的大部分结缔组织和肌肉组织。

Head process，头突：在鸟类胚胎中，经过亨氏结在脊索前部向前迁移的脊索中胚层前部分，它们将处在形成前脑和中脑的细胞的下部。

Heart field（cardiogenic mesoderm），心区（生心中胚层）：脊椎动物脏壁中胚层的两个区域，分别位于身体的两侧，将被特化成心脏发育的命运。在羊膜动物，心区的心脏细胞在原肠胚形成过程中通过原条运动，致使这些早期细胞的内 - 外侧排列变成发育中的心管的前 - 后（头 - 尾）轴。

Heart tube，心管：在心区中线形成的线性（前 - 后）结构；将变成心房、心室，以及主动脉和肺动脉的基部。

Hedgehog，Hedgehog 蛋白：一个家族的旁分泌因子，被胚胎用于诱导特定细胞类型和建立组织间的边界。Hedgehog 蛋白必须与胆固醇分子形成复合物才能发挥功能。脊椎动物至少有三个果蝇 *hedgehog* 基因的同源物：*sonic hedgehog*（*shh* 基因）、*desert hedgehog*（*dhh* 基因）、*indian hedgehog*（*ihh* 基因）。

Hedgehog pathway，Hedgehog 信号途径：Hedgehog 蛋白与 Patched 蛋白受体结合而激活的各种蛋白质。Hedgehog 蛋白结合 Patched 蛋白后，Patched 蛋白的构象发生改变，使其不再抑制 Smoothened。Smoothened 将 Ci 蛋白从微管上释放下来并保护它不被切割。完整的 Ci 蛋白进入细胞核，变成一个之前受它抑制的相同基因的转录激活物。

Hemangioblast，成血液血管细胞：快速分裂的细胞，通常是干细胞，能形成血管和血细胞。

Hematopoiesis，血细胞发生：产生血细胞的过程。

Hematopoietic inductive microenvironment（HIM），造血诱导微环境：在局限性多能造血干细胞中诱导不同转录因子的细胞区域，这些转录因子在造血干细胞子代中特化发育途径。

Hematopoietic stem cell（HSC），造血干细胞：一种多能性干细胞类型，能产生一系列潜能被局限到某些血细胞谱系的居间祖细胞。这些谱系然后产生身体的所有血细胞和淋巴细胞。

Hemimetabolous，半变态：经历预若虫、若虫和成虫（成体）时期的昆虫变态方式。

Hemogenic endothelial cell，血源性内皮细胞：来自侧板和背主动脉腹部区域的初级内皮细胞。它们产生造血干细胞，迁移到肝和骨髓并变为成体造血干细胞。

Hensen's node，亨氏结：鸟类胚胎原条前端的区域性细胞增厚。亨氏结的中央具有一个漏斗状的凹陷（有时称为原窝，primitive pit），细胞能从这里进入胚胎以形成脊索和索前板。亨氏结在功能上对应于两栖类的背胚孔唇（组织者）和鱼类的胚盾。也称为**原结（primitive knot）**。

Heparan sulfate proteoglycan（HSPG），硫酸乙酰肝素蛋白聚糖：细胞外基质中最普遍的蛋白聚糖之一，它能结合不同旁分泌家族的很多成员，并将这些旁分泌因子以高浓度的形式呈递到它们的受体。

Hepatectomy，肝切除术：手术性去除肝的一部分。

Hepatic diverticulum，肝憩室：肝的前体，是从前肠内胚层延伸到间充质周围的一个内胚层芽。

Hepatocyte growth factor（HGF），肝细胞生长因子：肝星形细胞分泌的旁分泌因子，在补偿性再生中使肝细胞重新进入细胞周期。也称为分散因子（scatter factor）。

Hermaphrodite，雌雄同体：既有卵巢也有睾丸组织的个体，具有卵睾（含有卵巢和睾丸组织的生殖腺），或一个卵巢在一侧、一个睾丸在另一侧。比较 **Gynandromorph（雌雄嵌合体）**。

Heterochromatin，异染色质：在整个细胞周期的大部分时间保持浓缩状态，并且比其他多数染色质更晚复制的染色质。通常没有转录活性。比较 **Euchromatin（常染色质）**。

Heterochronic parabiosis，异龄联体：手术性连接两个不同年龄的动物的循环系统；在小鼠中被用于研究老龄化对干细胞的影响。

Heterochrony，异时发生：希腊语，“不同时间”。两个发育过程在相对时序上发生变化，作为一种机制以产生可供自然选择的表型变异。这是一个模块相对于胚胎的其他模块改变表达时间或生长速度。

Heterometry，异量发生：希腊语，“不同程度”。基因产物发生量变以产生可供自然选择的表型变异。

Heterophilic binding，异亲和结合：两个不同分子之间的结合，例如，一个细胞的膜上所表达的受体结合另一个细胞的膜上所表达的不同类型受体。

Heterotopy，异位发生：希腊语，“不同位置”。基因表达（如转录因子或旁分泌因子）在空间上发生变化，作为一种机制以产生可供自然选择的表型变异。

Heterotypy，异型发生：希腊语，“不同种类”。一个基因现有的编码区发生变异，改变了蛋白质的功能特性，作为一种机制以产生可供自然选择的表型变异。

High CpG-content promoter（HCP），高 CpG 含量启动子：有很多 CpG 岛的启动子；这些启动子通常调节生物体构建所需的发育基因；它们的默认状态是“开启”。见 **CpG island（CpG 岛）**。

Histoblast nest，成组织细胞簇：在完全变态的昆虫中将产生成体腹部的成虫盘细胞簇。

Histone，组蛋白：带正电荷的蛋白质，是染色质的主要蛋白成分。见 **Nucleosome（核小体）**。

Histone acetylation，组蛋白乙酰化：在组蛋白上添加带负电荷的乙酰基团，这将中和赖氨酸的正电荷并使组蛋白松散，因此激活转录。

Histone acetyltransferase，组蛋白乙酰转移酶：将乙酰基团添加到组蛋白（尤其是添加到组蛋白 H3 和 H4 的赖氨酸）的催化酶。乙酰转移酶使核小体不稳定，致使它们从染色质上脱离下来，因此促进转录。

Histone deacetylase，组蛋白脱乙酰酶：将乙酰基团从组蛋白去除的酶，这些酶稳定核小体和阻止转录。

Histone methylation，组蛋白甲基化：在组蛋白上添加甲基基团。或者激活转录，或者进一步抑制转录，取决于甲基化的氨基酸和其他相邻甲基或乙酰基团的存在。

Histone methyltransferase，组蛋白甲基转移酶：将甲基基团添加到组蛋白和激活或抑制转录的酶。

Holobiont，全共生体：一个宿主和它的永久共生生物所组成的复合生物体。

Holoblastic cleavage，完全卵裂：希腊语，*holos*（“完全的”）。胚胎的细胞分裂（卵裂）图式，整个卵被分割成更小的细胞，如海胆、两栖类和哺乳动物胚胎的卵裂。

Holometabolous，完全变态：昆虫的变态类型，见于蝇、甲虫、蛾和蝴蝶。没有预若虫期。昆虫孵化成一个幼体（毛虫、蛴螬、蛆虫），然后经历几个使它在幼体换羽之间逐渐变大的龄期：一次变态换羽以变成蛹，一次成虫换羽和最终的成体（成虫）羽化。

Homeobox，同源异形框：含有 180 个碱基对的 DNA 序列，是编码同源域蛋白的基因（包括同源异形基因）的特征。

Homeorhesis，发育稳态：自身仍处在构建过程中的生物体如何稳定其不同的细胞谱系。

Homeostasis，体内稳态：通过反馈应答的方式维持稳定的生理状态。

Homeotic complex（Hom-C），同源异形复合体：果蝇 3 号染色体上含有触角足复合体和双胸复合体的区域。

Homeotic mutant，同源异形突变体：来自同源异形选择基因的突变，一个结构被另一个结构取代（如触角被腿取代）。

Homeotic selector gene，同源异形选择者基因：受裂隙基因、成对规则基因、体节极性基因的蛋白质产物调控的一类果蝇基因，这类基因的转录决定每个体节的发育命运。

Homing，归巢：细胞通过迁移找到它的组织特异性目的地的能力。

Homodimer，同源二聚体：两个相同的蛋白质分子结合在一起。

Homologous，同源的：一些结构和（或）它们各自的组成部分的相似性源于它们产生自一个共同祖先结构。例如，鸟的翼和人的前肢。比较 **Analogous（同功的）**。

Homologue，同源物（同系物）：①具有相同的总体遗传组成的一对（或更多）染色体之一。例如，二倍体生物体的每个染色体都有两个副本（同源物），每个副本继承自一个亲本。②不同物种的进化特征，它们因为来自一个共同祖先而相似。

Homophylic binding，同亲和结合：相同分子之间的结合，例如，一个细胞的膜受体结合另一个细胞的膜上相同类型的受体。

Horizontal neuron，水平神经元：神经视网膜的神经元，在视网膜的平面传递电脉冲；它们帮助整合来自很多光感受器细胞的感觉信号。

Horizontal transmission，水平传递：一个生来没有共生生物的宿主后来被环境或相同物种的其他成员所感染。这里也指基因不通过生殖方式从一个生物转移到另一个生物，如细菌中发生的现象。比较 **Vertical transmission（垂直传递）**。

Host，宿主：共生关系中的大生物体，在这种共生关系中一种生物体比另一种生物体更大，小生物体可以生活在大生物体的表面或身体内部。这里也指组织移植时接收供体移植物的生物体。

Hox gene，同源异形基因：控制（至少在一定程度上）胚胎区域性特征（尤其是沿前 - 后轴方向）的一个大家族的相关基因。同源异形基因编码一些调节其他基因表达

的转录因子。所有已知的哺乳动物基因组的每个单倍体组含有 4 个副本的同源异形基因复合体，位于 4 个不同的染色体（小鼠的 *Hoxa* 到 *Hoxd*，人的 *HOXA* 到 *HOXD*）。从位于每个复合体的末端但表达在最前端的基因开始，哺乳动物的同源异形基因被编号为 1 到 13。

Hu protein，Hu 蛋白：RNA 结合蛋白，稳定一些参与神经元发育的 mRNA，阻止它们被迅速降解。例如，HuA、HuB、HuC、HuD。

Hub，聚集中心：果蝇精巢中精子干细胞驻留的调节性微环境。

Hyaline layer，透明层：皮质颗粒蛋白（透明蛋白）围绕海胆卵表面形成的一个覆盖层。透明层在卵裂过程中为卵裂球提供支撑。

Hydatidiform mole，葡萄胎：一种类似于胎盘组织的人类肿瘤，产生自一个单倍体精子受精一个没有雌原核的卵，因此整个基因组完全来自精子，这使卵不能正常发育，被作为基因组印记的证据。

20-Hydroxyecdysone（20E），20- 羟基蜕皮激素：一种昆虫激素，是蜕皮素的活性形式，启动和协调每次换羽，调节变态过程的基因表达变化，并指令成虫盘的分化。

Hyperactivation，超激活运动：在某些哺乳类物种，获能精子呈现出增强和更有力的运动性。超激活运动被认为能帮助获能精子脱离输卵管上皮，使得精子在黏稠的输卵管液中更有效地运动，并有助于精子穿入卵丘细胞的细胞外基质。

Hypertrophic chondrocyte，肥大软骨细胞：软骨内成骨第四阶段形成的细胞，这时的软骨细胞在转录因子 Runx2 的影响下停止分裂，并显著增大体积。

Hypoblast，下胚层：在进行原肠胚形成的鱼类胚胎中，这是进行外包的胚盘层增厚的边缘区的内层；或是鸟类和哺乳动物双胚盘层的下层。下胚层在鱼类（但不在鸟类和哺乳动物）含有内胚层和中胚层的前体。在鸟类和哺乳动物，它含有卵黄囊胚外内胚层的前体。

Hypoblast island（primary hypoblast），下胚层岛（初级下胚层）：来自鸟类胚盘层明区的细胞，它们单个地迁移到胚下腔以形成独立和不连续的细胞簇，每个簇含有 5 ～ 20 个细胞。这些细胞不形成胚胎本体。

Hypomorphic mutation，亚效突变：降低基因功能的突变，而不是导致蛋白质功能缺失的无效突变。

Hypostome，垂唇：水螅“头部”含有口的一个锥形区域。

Imaginal cell，成虫细胞：完全变态昆虫的幼体中将要产生成体结构的细胞。在幼体期，这些细胞增加数量但在蛹期前并不分化；包括成虫盘、成组织细胞和每个幼体器官内的成虫细胞簇。

Imaginal disc，成虫盘：成簇的相对未分化细胞，被搁置起来以产生成体结构。成虫盘将分化为成体的表皮结构，包括翅、腿、触角、平衡杆、眼、头、胸和完全变态昆虫的外生殖器。

Imaginal molt，成虫换羽：完全变态昆虫的最后一次换羽，这时成体（成虫）的表皮在蛹表皮下形成，然后成体在成体羽化时从蛹壳中孵出。

Imaginal rudiment，成虫原基：发育自长腕幼体的左体腔囊，并将变为成体海胆的很多结构。

Imago，成虫：有翅和性成熟的成体昆虫。

In situ，原位：拉丁语，“现场”。位于其自然的位置或环境。

In situ probe，原位杂交探针：互补性 DNA 或 RNA，用于确定组织中特定 DNA 或 RNA 序列的位置。

Indel，得失位：DNA 碱基的插入或缺失。

Indifferent gonad，未分化生殖腺。见 **Bipotential gonad**（双潜能生殖腺）。

Indirect developer，间接发育动物：胚胎发育包括一个与成体生物有显著不同特征的幼体期，成体在一个变态期后才羽化出来的动物。

Induced pluripotent stem（iPS）cell，诱导多能干细胞：被转变成具有胚胎干细胞多潜能性的成体细胞。一般通过激活一些转录因子来实现。

Inducer，诱导物：一个组织产生的一个或多个信号，在某些其他组织中诱导一种细胞行为。

Induction，诱导：一个细胞群体通过近距离相互作用而影响邻近细胞进行发育的过程。

Ingression，内移：单个细胞从表层迁移到胚胎的内部。这些细胞变成间充质（也就是说它们互相分离）并独立迁移。

Inner cell mass（ICM），内细胞团：哺乳动物胚泡内的一小组内部细胞，将形成胚胎本体及其附属的卵黄囊、尿囊和羊膜。

Inositol 1，4，5-trisphosphate（IP_3），肌醇三磷酸：磷脂酶 C 产生的第二信使，能释放细胞内的钙离子储存。它对起始皮质颗粒释放和海胆发育都很重要。

Inside-out gradient of development，内外梯度发育：脑新皮质和其他部位的发育过程，最早产生的神经元形成最接近脑室的一层，后来产生的神经元迁移很长距离以形成更表面层。

Instar，龄：完全变态昆虫中幼体换羽之间的时期。在这些时期，幼体（毛虫、蛴螬、蛆虫）在每次换羽之间进食并变大，直到最后一个龄期，这时幼体转变成蛹。

Instructive interaction，指令性相互作用：一种形式的诱导性相互作用，来自诱导性细胞的一个信号对启动应答细胞中新基因的表达是必需的。

Insulator，绝缘子：限制增强子在某个范围内激活特定基因表达的 DNA 序列，因此使一个启动子“绝缘”而不被另一个基因的增强子激活。

Insulin signaling pathway，胰岛素信号途径：胰岛素和胰岛素样蛋白的受体参与的信号途径；它可能是遗传性寿

命限制的一个重要组分，这个信号途径的下调对应于延长的寿命。

Insulin-like growth factor（IGF），胰岛素样生长因子：起始成纤维细胞生长因子样信号途径的生长因子，能干扰骨形态发生蛋白和 Wnt 蛋白信号途径。胰岛素样生长因子对两栖类前部神经管（包括脑和感觉基板）的形成是必需的。

Integration，整合：理论体系方法中的一个原则：不同的部分如何组合在一起，它们如何相互作用以形成整体。

Integrin，整联蛋白：一个受体蛋白家族，因为这些蛋白质**整合**细胞外和细胞内支架，并使它们共同发挥作用而被命名。在细胞外，整联蛋白结合多种细胞外基质黏附蛋白中的序列，包括纤连蛋白、玻连蛋白（眼的基底膜）、层粘连蛋白。在细胞质一侧，整联蛋白结合踝蛋白和 α-辅肌动蛋白，这两个蛋白质连接肌动蛋白微丝。这种双重结合使得细胞依托固定的细胞外基质，利用肌球蛋白收缩肌动蛋白而运动。

Interdigital necrotic zone，指（趾）间坏死区：发育中的四足动物肢的程序性死亡区域，它将指（趾）互相分开；如果这个区域的细胞没有死亡，趾之间的蹼将被保留，如鸭的足。

Interior necrotic zone，内部坏死区：发育中的四足动物肢的程序性死亡区域，它使桡骨和尺骨分开。

Interkinesis，减数分裂间期：第一次减数分裂结束到第二次减数分裂起始的短暂时期。

Interkinetic nuclear migration，周期性核迁移：在某些细胞内，细胞周期过程中的核运动；见于生发神经上皮，核从基端移动到接近脑室表面的细胞顶端，它们在这个位置进行分裂，然后缓慢迁移回基端。

Intermediate mesoderm，居间中胚层：紧邻轴旁中胚层侧部的中胚层。它形成肾上腺的外层（皮质）部分，以及肾、生殖腺及其相连的导管所组成的泌尿生殖系统。

Intermediate progenitor cell（IP cell），中间祖细胞：室管膜下区的神经元前体细胞；来自放射状神经胶质细胞。

Intermediate spermatogonium，中间型精原细胞：哺乳动物精巢中最早定型的干细胞类型，它们将形成精子。

Intermediate zone，居间层。见 **Mantle zone**（外套层）。

Internal granular layer，内颗粒层：小脑的一层细胞，由颗粒细胞从外颗粒层迁移回到室管膜区而形成。

Internal YSL（iYSL），内卵黄合胞体层：鱼类胚胎卵黄合胞体层的一个区域。在胚盘层扩张以包裹卵黄细胞时，由卵黄合胞体细胞核在其下部运动而形成。见 **Yolk syncytial layer**（卵黄合胞体层）。

Intersex，雌雄间性：雄性和雌性特征在同一个体中出现的状态。

Interstitial stem cell，间质干细胞：水螅外胚层中的一类干细胞，它们产生神经元、分泌性细胞、刺细胞和配子。

Intraembryonic vasculogenesis，胚内血管发生：胚胎器官发生过程中的血管形成。比较 **Extraembryonic vasculogenesis**（胚外血管发生）。

Intramembranous bone，膜内骨：膜内成骨形成的骨骼。

Intramembranous ossification，膜内成骨：间充质直接形成骨骼，而不通过软骨前体。有三个主要类型的膜内骨：源于中胚层的籽骨和骨膜骨、颅神经嵴细胞来源的间充质细胞形成的真皮骨骼。

Intron，内含子：基因中不编码蛋白质的 DNA 区域。比较 **Exon**（外显子）。

Invagination，内陷：一个细胞区域的褶皱，很像一个软皮球被戳时的凹陷。

Involuting marginal zone（IMZ），内卷边缘区：非洲爪蛙原肠胚形成过程中进行内卷的细胞，包括咽内胚层、头部中胚层、脊索、体节、心脏、肾和腹部中胚层的前体。

Involution，内卷：扩张性外层的内转或内向运动，致使它沿着外部细胞的内表面伸展。

Ionophore，离子载体：使离子（如钙离子）扩散穿过脂质膜的复合物，否则脂质膜是这些离子不可渗透的屏障。

Iris，虹膜：眼中的肌肉组织色素环，控制瞳孔的大小和决定眼的颜色。

Isolecithal，均黄卵：希腊语，“相等卵黄”。描述卵黄颗粒稀疏和均等分布的卵，如海胆、哺乳动物和蜗牛。

Isthmus，输卵管峡：邻近子宫的哺乳动物输卵管的狭窄部分。

Jagged protein，Jagged 蛋白：Notch 蛋白的配体，参与近分泌相互作用和 Notch 信号途径的激活。

JAK，Janus 激酶：在 Janus 激酶 - 信号转导及转录激活蛋白级联中与成纤维细胞生长因子受体相关联。

JAK-STAT cascade，Janus 激酶 - 信号转导及转录激活蛋白级联：在细胞质中与 Janus 激酶蛋白相关联的跨膜受体结合旁分泌因子后所激活的途径。配体与受体结合后使信号转导及转录激活蛋白家族的转录因子磷酸化。

Junctional neurulation，交界区神经胚形成：初级神经管（位于后肢的前部）和次级神经管（在哺乳动物是从骶骨区域向后延伸的部分，或是鱼类和两栖类的尾部区域）之间的过渡区所发生的神经管形成。

Juvenile hormone（JH），保幼激素：昆虫的脂质激素，它能阻止蜕皮素对变态所需的基因表达变化产生诱导作用。因此，它在换羽过程中使昆虫在每次换羽后变成另一个幼体龄，而不是一个蛹或成体。

Juxtacrine interaction，近分泌相互作用：一个细胞表面的膜蛋白与邻近（并置）细胞表面的受体蛋白相作用。

Juxtacrine signaling，近分泌信号传递：并置的细胞之间的信号传递，即细胞之间直接接触。

Kairomone，利它素：被捕食者释放，能在其猎物中诱导防卫反应的化学物质。

Karyokinesis，核分裂：细胞核的有丝分裂。核分裂的机械因素是有丝分裂纺锤体。

Keratinocyte，角质形成细胞：分化的表皮细胞，它们紧密地连接在一起，形成脂质和蛋白质组成的防水膜。

Koller′s sickle，Koller 镰形区。见 **Primitive streak**（原条）。

Kupffer′s vesicle，Kupffer 泡：充满液体的过渡性器官，含有控制斑马鱼左右不对称的纤毛。

Labioscrotal fold，阴唇皱褶：在哺乳动物外生殖器的未分化时期，包围泄殖腔膜的皱褶。它们在雌性中将形成大阴唇，在雄性中将形成阴囊。也称为尿生殖褶或生殖隆起。

***lacZ* gene，β- 半乳糖苷酶基因：**编码 β- 半乳糖苷酶的大肠杆菌基因，通常被作为报道基因使用。

Lamellipodium，片足：宽的运动性伪足，含有肌动蛋白网络；见于迁移性细胞，也见于神经元的生长锥。

Lamina，层：脑中神经元组织成的层和簇（核）。

Laminin，层粘连蛋白：一个大的糖蛋白和基底膜的主要成分，参与组装细胞外基质、促进细胞黏附、改变细胞形态、促使细胞迁移。

Lampbrush chromosome，灯刷染色体：两栖类初级卵母细胞的染色体在第一次减数分裂前期的双线期时延伸出大的 DNA 环，代表 RNA 活跃合成的位点。

Lanugo，胎毛：人类胚胎的初始毛发，通常在出生时脱落。

Large micromere，大的小分裂球：海胆胚胎第五次卵裂时小分裂球产生的一行细胞。它们将变成形成幼体骨针的初级间充质细胞。

Larva，幼虫（体）：未性成熟时期的生物体，通常在形态上与成体有显著差异，这个时期经常持续很长时间以便摄食和扩散。

Larval settlement，幼体附着：海洋生物幼体在没有感受到它们可以附着的特定环境信息之前暂停发育的能力。

Laryngotracheal groove，喉气管沟：在第四对咽囊之间，咽底部中央的内胚层上皮向腹部延伸的外囊。喉气管沟然后分支形成支气管和肺。

Lateral inhibition，侧抑制：一个细胞被相邻细胞的活动所抑制。

Lateral plate mesoderm，侧板中胚层：居间中胚层侧部的中胚层板。它形成附肢骨骼、肢芽的结缔组织、循环系统（心脏、血管、血细胞）、肌肉，以及消化道和呼吸道的结缔组织、体腔内壁及其衍生物。它也帮助形成一些重要的胚外膜，将营养运输到胚胎。

Lateral somitic frontier，体节侧边界：近轴和远轴肌细胞之间，以及体节源和侧板源的真皮之间的边界。

Leader sequence，前导序列。见 **5′ Untranslated region**（5′非翻译区）。

Lens placode，晶状体基板：成对的表皮增厚，受下部视杯诱导而内陷形成晶状体泡，然后分化为成体中透明的眼晶状体，使光能入射到视网膜。

Lens vesicle，晶状体泡：晶状体基板形成的小泡。它将分化成晶状体。它也诱导上部的外胚层形成角膜，并诱导视杯的内侧分化成神经视网膜。

Leptotene，细线期：希腊语，“细的线”。在第一次减数分裂前期 I 的第一个时期，染色质被拉伸变细以至于不能分辨单个染色体。这时 DNA 复制已经发生，每个染色体由两个平行的染色单体组成。

Level-specific property and emergence，层次特异性特性和突现：理论体系方法的一个原则：一个体系在任何组织化水平的特性不能完全被“低于”它的那些组织化水平的特性所解释。

Leydig cell，睾丸间质细胞：间质性间充质来源的睾丸细胞，包裹睾丸索，产生次级性别决定所必需的睾酮，在成体中支持精子发生。

Life expectancy，生命期望：一个特定物种中平均个体预期能够生存的时间；这是群体的特征，不是物种的特征。

Ligand，配体：一个细胞分泌的分子结合另一个细胞的受体，在这个细胞中引发一种应答。

Lim gene，Lim 基因：编码转录因子的基因，这些转录因子在结构上与同源异形基因编码的蛋白质相关。

Limb bud，肢芽：一个圆形的隆突，将形成未来的肢。肢芽由来自肢场侧板中胚层的体壁层（肢的骨骼前体细胞）和体节（肢的肌肉前体细胞）的间充质细胞增殖而形成。

Limb field，肢场：胚胎的一个区域，含有能够形成一个肢的所有细胞。

Lineage-restricted stem cell，谱系限制性干细胞：源于局限性多能干细胞的干细胞，只能产生一种或一组细胞类型。

Lissencephalic，无脑回：没有皱褶的大脑皮质，如小鼠。比较 **Gyrencephalic**（多脑回）。

Long noncoding RNA（lncRNA），长非编码 RNA：在二倍体生物的两条染色体之一上失活基因的转录调节物。例如，Xist 是一个长非编码 RNA，参与失活雌性第二条 X 染色体上的基因。一些长非编码 RNA 似乎对一个基因的母源或父源副本具有特异性。

Lophotrochozoan，冠轮动物：两种主要的原口动物类群之一，许多这种动物都具有螺旋卵裂和担轮幼体形式的特征。这是一个多样化的类群，包括环节动物（分节的蠕虫，如蚯蚓）、软体动物（如蜗牛）和扁虫（如涡虫）。见 **Ecdysozoan**（蜕皮动物）。

Loss-of-function evidence，缺失功能证据：假设原因的缺失与假设效应的缺失相关联。是“发现它、失去它、移动它”中的“失去它”。见 **Correlative evidence**（关联性证据）；**Gain-of-function evidence**（获得功能证据）。

Low CpG-content promoter（LCP），低 CpG 含量启动子：这些启动子通常见于那些产物代表细胞成熟和完全分化

的基因。CpG 位点通常被甲基化，并且它们的默认状态是“关闭”，尽管它们可能被特异的转录因子激活。见 **CpG island**（**CpG 岛**）。

Lumen，**腔**：所有管状或者球状结构或器官中的空隙。

Luteinizing hormone（**LH**），**黄体生成素**：哺乳动物垂体分泌的激素，刺激类固醇激素的产生，如来自卵泡细胞的雌激素和来自睾丸间质细胞的睾酮。黄体生成素水平的急剧升高使初级卵母细胞完成第一次减数分裂，并为卵泡排卵作准备。

Lymphatic vasculature，**淋巴管系统**：循环系统中运输淋巴细胞的导管（对应于循环系统的血管）。

Macromere，**大分裂球**：不对称卵裂产生的大细胞，例如，海胆胚胎第四次分裂时产生的四个大细胞，这时植物极的一排细胞进行不均等的中纬卵裂。

Male pronucleus，**雄原核**：精子的单倍体细胞核。

Malformation，**畸形**：遗传事件引起的异常，例如，基因突变、染色体非整倍性和异位。

Mammalian gut-associated lymphoid tissue（**GALT**），**哺乳动物肠道相关淋巴组织**：介导肠黏膜免疫和口服免疫耐受，使得哺乳动物对食物不产生免疫应答。肠道微生物对该淋巴组织的成熟至关重要。

Mantle zone（**intermediate zone**），**外套层**（**居间层**）：发育中的脊髓和髓质的第二层，围绕初始的神经管形成。因为它含有神经元细胞体并呈现一个大致的浅灰色，因此将形成灰质。

Marginal zone，**边缘区**：①发育中的脊髓和髓质的第三和第四层，是驻留在外套层的神经元所延伸的轴突组成的细胞较少的区域。它将形成白质，这是因为神经胶质细胞以髓鞘包裹轴突，呈现白色的外观。②两栖类原肠胚中原肠胚形成起始的位置，这是围绕囊胚赤道的区域，动物半球和植物半球在这个位置相接触。③鸟类和爬行动物原肠胚（相当于边缘带）的明区和暗区之间的薄层细胞，在早期发育过程中对决定细胞命运有重要作用。

Maskin，**掩蔽蛋白**：两栖类卵母细胞中的蛋白质，在信使 RNA 上产生一个抑制性环状结构，阻止信使 RNA 的翻译。它结合另外两个蛋白质后形成这个环，即细胞质多腺苷酸化元件结合蛋白和真核起始因子 -4E，这两个蛋白质分别结合在 mRNA 的两端。

Master regulator，**主调节物**：通过以下方式控制细胞分化的转录因子：①在一种细胞类型的特化起始时表达；②调节该细胞类型特异性基因的表达；③使一个细胞的命运转向该细胞类型。

Maternal contribution，**母体产物**：卵细胞质中储存的 mRNA 和蛋白质，来自初级卵母细胞时期的母体基因组。见 **Maternal message**（**母体信使**）。

Maternal effect gene，**母体效应基因**：编码一些定位在果蝇卵不同区域的信使 RNA。

Maternal message，**母体信使**：卵在初级卵母细胞期合成并储存在卵细胞质的信使 RNA。这时卵在卵巢中仍是二倍体。所以，这种 mRNA 由母体基因组产生。

Maternal-to-zygote transition，**母体到合子转换**：母体提供的 mRNA 降解，发育受合子基因组调控的胚胎时期；经常发生在中囊胚期。见于很多不同的动物类群。

Maximum lifespan，**最高寿命**：特定物种中的一个个体已知所存活的最长年限，它是该物种的特征。

Medial hinge point（**MHP**），**内侧铰合点**：在鸟类和哺乳动物，它由神经板中线的细胞形成。内侧铰合点细胞锚定于它们下部的脊索并形成一个折点，这个折点在背中线处形成一个沟，在神经板形成神经管时帮助它弯曲。

Mediator，**中介体**：接近 30 个蛋白亚基组成的巨大多聚复合物，在很多基因中介导 RNA 聚合酶 II（结合启动子）和增强子之间的连接，因此在启动子上形成一个起始前复合物。

Medullary cord，**髓索**：在次级神经胚形成过程中，鸟类胚胎后部区域的间充质细胞通过致密，然后经历间充质到上皮转换而形成。它随后将成腔而形成神经管的尾部。

Meiosis，**减数分裂**：在动物中仅发生在生殖细胞的独特分裂过程，将染色体的数目减少到单倍体组。所有其他非生殖细胞进行有丝分裂。减数分裂与有丝分裂的区别是：①减数分裂细胞经历两次细胞分裂但没有 DNA 复制的间期；②同源染色体（每个染色体含有两个在动粒上连接的姊妹染色单体）配对并重组遗传物质。

Melanoblast，**成黑素细胞**：色素祖细胞。

Melanocyte stem cell，**黑素干细胞**：源自躯干神经嵴细胞的成体干细胞，产生成黑素细胞，并驻留在毛囊或羽毛囊隆突微环境，形成皮肤、毛发和羽毛的色素。

Melanocyte，**黑素细胞**：含有黑色素的细胞。来自大范围迁移到表皮所有区域的神经嵴细胞。

Meltrin，**Meltrin 蛋白**：一组参与细胞融合事件的金属蛋白酶，例如，成肌细胞融合形成肌纤维和巨噬细胞融合成破骨细胞。见 **Metalloproteinase**（**金属蛋白酶**）。

Meroblastic cleavage，**不完全卵裂**：希腊语，“*meros*”（“部分”）。合子中含有大量卵黄的细胞分裂（卵裂）图式，仅有一部分细胞质被分隔。卵裂沟不穿过细胞质的卵黄部分，因为卵黄颗粒妨碍膜的形成。只有卵的一部分注定变成胚胎；而另一部分，即卵黄，则作为胚胎的营养物。例如，昆虫、鱼类、爬行动物和鸟类中的卵裂。

Meroistic oogenesis，**滋养性卵子发生**：见于某些昆虫（包括果蝇和蛾）的卵子发生，卵原细胞产生的细胞之间保持细胞质连接。

Mesencephalon，**中脑**：发育过程中脊椎动物脑中部的泡；其主要衍生物包括视顶盖和被盖。中脑的腔变成中脑水管。

Mesenchymal stem cell（**MSC**），**间充质干细胞**：也称为骨髓源性干细胞。它们是源于骨髓的局限性多能干细胞，

形成多种骨骼、软骨、脂肪谱系。

Mesenchymal-to-epithelial transition（MET），间充质到上皮转换：间充质细胞转变成上皮细胞。例如，体节形成时，体节从前体节中胚层形成。见 **Epithelial-to-mesenchymal transition**（上皮到间充质转换）。

Mesenchyme，间充质：松散分布的胚胎结缔组织，由离散的成纤维细胞样细胞和有时是迁移性的间充质细胞被大量细胞外基质隔开所组成。

Mesenchyme cap cell，间充质帽细胞：源自后肾间充质的局限性多能干细胞，包裹在输尿管芽分支的顶端并能形成肾单元的所有细胞类型。

Mesentoblast，成中内胚层细胞：在蜗牛胚胎，4d 卵裂球的后代形成大多数中胚层（心脏、肾和肌肉）和内胚层（肠管）结构。

Mesoderm，中胚层：希腊语，*mesos*（"之间"）。三个胚层的中间部分，位于外胚层和内胚层之间。中胚层形成肌肉和骨骼、结缔组织、泌尿生殖系统（肾、生殖腺、导管）、血液和血管、心脏的大部分。

Mesodermal mantle，中胚层套：在两栖类胚胎原肠胚形成过程中，这些细胞从侧部和腹部胚孔唇内卷，并将形成心脏、肾、骨骼以及多种其他器官的一部分。

Mesomere，中分裂球：海胆胚胎第 4 次卵裂产生的 8 个卵裂球，这时动物极的一排 4 个细胞径向分裂成 8 个体积相同卵裂球。

Mesonephric duct，中肾管。见 **Wolffian duct**（沃尔夫管）。

Mesonephros，中肾：羊膜类胚胎的第二个肾，被肾管（沃尔夫管）中部在邻近间充质诱导形成。它在一些哺乳动物物种短暂行使滤尿功能，而且中肾小管形成一些导管，从睾丸向尿道（附睾和输精管）输送精子。它在非羊膜动物（鱼类和两栖类）变为成体的肾。

Messenger RNA（mRNA），信使 RNA：编码蛋白质，从核 RNA 加工以删除非编码区并对末端进行保护后离开细胞核的 RNA。

MET，见 **Mesenchymal-to-epithelial transition**（间充质到上皮转换）。

Metalloproteinase，金属蛋白酶：基质金属蛋白酶。这些酶消化细胞外基质，在疾病和发育中对很多组织类型的重塑有重要作用，包括肿瘤转移、上皮性器官分支的形态发生、出生时胎盘脱离、关节炎。

Metamorphic climax，变态高峰：两栖类的主要变态变化时期，包括尾和鳃的吸收，以及肠的重塑。这时四碘甲腺原氨酸的浓度急剧增加，甲状腺素受体 -β 的水平达到高峰。

Metamorphic molt，变态换羽：成蛹换羽；完全变态昆虫中最后一个龄期结束时的换羽，这时幼体变成蛹。

Metamorphosis，变态：从一种形态变成另一种形态，例如，昆虫的幼体转变为性成熟的成体，或蝌蚪转变成蛙。

Metanephric mesenchyme，后肾间充质：源于居间中胚层后部的间充质区域，参与产生后肾的间充质和上皮相互作用，并将形成分泌性的肾单元。也称为生后肾间充质。

Metanephros/metanephric kidney，后肾：胚胎的第三个肾，并且是羊膜动物的永久肾。

Metaphase plate，赤道板：出现在有丝分裂或减数分裂过程的结构，染色体通过它们的动粒附着于微管纺锤体，并在细胞的两极之间排列。如果赤道板在细胞两极的中间形成，细胞便进行对称分裂；如果它更接近一个极，细胞便进行不对称分裂，产生一个大细胞和一个小细胞。

Metastasis，转移：癌细胞侵入其他组织。

Metazoan，后生动物：动物。

Metencephalon，后脑：菱脑的前部分区；形成小脑（协调运动、姿态和平衡）和脑桥（脑区间信息传递的纤维束）。

Methylation，甲基化。见 **Histone methylation**（组蛋白甲基化）。

5-Methylcytosine，5- 甲基胞嘧啶：DNA 的第"五"类碱基，在 DNA 复制后，酶促反应使胞嘧啶转变成 5- 甲基胞嘧啶，只有后面紧随着鸟嘌呤核苷的胞嘧啶才能被转变。在哺乳动物，DNA 中大约有 5% 的胞嘧啶被转变成 5- 甲基胞嘧啶。

Microfilament，微丝：聚合的肌动蛋白长索和细胞骨架的主要成分。它与肌球蛋白共同形成细胞质分裂所需的收缩力；受精过程中在卵的皮质形成以延伸微绒毛；被其他分子间接地连接到跨膜黏附分子，如钙黏着蛋白和整联蛋白。

Microglia，小胶质细胞：中枢神经系统的小胶质细胞，具有免疫功能，吞噬死亡和功能异常的神经元及神经胶质细胞。

Micromere，小分裂球：不对称卵裂产生的小细胞，例如，海胆胚胎第 4 次卵裂时在植物极产生的 4 个小细胞，这时植物极的一排细胞经历不均等的中纬卵裂。

Micropyle，精孔：果蝇精子能够进入卵的唯一位置，位于胚胎未来的背前部区域，这是绒毛膜（卵壳）中的一个通道，每次只能使一个精子通过。

MicroRNA（miRNA），微 RNA：与特定 mRNA 的一部分互补的小（22 个碱基）RNA，调节特定信使 RNA 的翻译。微 RNA 通常结合 mRNA 的 3′ 非翻译区，抑制它们的翻译。

Microspike，微刺：生长锥中对神经元寻径至关重要，含有微丝的方向性丝足，它们通过延伸和收缩使轴突迁移。微刺也探索微环境并将信号传回胞体。

Microvillus，微绒毛：小而含有微丝的突起物，从细胞表面延伸出来；例如，受精过程中卵表面的微绒毛可以帮助精子进入卵。

Mid-blastula transition，中囊胚期转换：胚胎的早期快速双相性（只有 M 期 S 期）有丝分裂发生了特征性转换：

①有丝分裂包括细胞周期的间隔期（G_1 和 G_2）；②细胞分裂的同步性消失；③原肠胚形成和细胞特化所需的新（合子）mRNA 开始转录。

Midpiece，中段：精子鞭毛接近精子头部的部分，含有线粒体环，为促进动力蛋白的 ATP 酶和支持精子的运动性提供 ATP。

miRNA，微 RNA。见 **MicroRNA**（**微 RNA**）。

MITF，小眼畸形相关转录因子（Microphthalmia-associated transcription factor）：成黑素细胞的特化和色素的产生所需的转录因子。其名称的来源是因为这个转录因子的基因在小鼠中发生突变后引起小眼（小眼畸形）的表型。

Mitosis-promoting factor（MPF），有丝分裂促进因子（促成熟因子）：由细胞周期蛋白 B 和一个细胞周期蛋白依赖性激酶组成，在有丝分裂和减数分裂中对启动细胞周期的分裂期（M 期）是必需的。

Model system，模式体系：便于在实验室研究并具有特殊的特性，使它们的发育机制很容易被观察的物种（如海胆、果蝇、秀丽隐杆线虫、斑马鱼和小鼠）。

Modularity，模块化：理论体系方法中的一个原则。生物体作为离散和互作性模块的体系进行发育。

Module，模块：离散的生长单元，具有内部整合多于外部整合的特征。

Molecular parsimony，分子简约性：所有谱系的发育使用相同类型分子（小“工具盒”）的原则。这个“工具盒”包括一些在动物门之间显著相似的转录因子、旁分泌因子、黏附分子和信号转导级联。

Monospermy，同精入卵：只有一个精子进入卵，一个单倍体精子核和一个单倍体卵子核结合后形成受精卵（合子）的二倍体核，因此恢复物种的正确染色体数目。

Monozygotic twin，同卵孪生：希腊语，“一个卵”。遗传上“相同”的孪生；一个早期卵裂胚胎的细胞互相分离时产生，或是因为早期卵裂球的分离，或是因为内细胞团在相同的胚泡中分离成两个区域。比较 **Dizygotic twin**（**异卵孪生**）。

Morph，型：环境条件所产生的多种不同潜在的表型之一。也称为生态型。

Morphallactic regeneration，变形再生。见 **Morphallaxis**（**变形再生**）。

Morphallaxis，变形再生：通过已有组织的重新图式化，仅有少量新生长的再生类型（如水螅的再生）。

Morphogenesis，形态发生：通过协调的细胞生长、迁移、凋亡，身体的细胞组织成具有特定功能的结构。

Morphogenetic determinant，形态发生决定物：影响细胞发育的转录因子或它们的 mRNA。

Morphogen，形态发生素：希腊语，“形态给予者”。通过它们的浓度决定细胞命运的扩散性生化分子，接触高水平形态发生素的细胞比接触低水平的细胞激活不同的基因。

Morpholino，吗啉反义寡核苷酸：针对一个 mRNA 的反义寡核苷酸；在实验中用于抑制蛋白质的表达。

Morula，桑椹胚：拉丁语，“桑椹”。16 ～ 64 个细胞时的脊椎动物胚胎；在囊胚或胚泡期之前形成。哺乳动物桑椹胚起始于 16 细胞期，由一小组内部细胞（将形成内细胞团）被一大组外部细胞（将形成滋养层）包围所组成。

Mosaic embryo，嵌合体胚胎：胚胎中大多数细胞的命运通过自主性特化受到决定，每个细胞独立接收指令，没有细胞之间的相互作用。

Mosaic pleiotropy，嵌合多效性：一个基因在多个组织中独立表达。每个组织都需要这个基因的产物，它的缺失导致组织发育异常。

mRNA cytoplasmic localization，mRNA 细胞质定位：这是 mRNA 翻译的空间调节，受以下因素介导：①扩散和局部锚定；②局部保护；③沿细胞骨架活跃运输。

Müller glial cell，苗勒氏胶质细胞：支撑和维持神经元的神经视网膜细胞。

Müllerian duct（paramesonephric duct），苗勒氏管（中肾旁管）：雄性和雌性哺乳动物胚胎中沿中肾管（沃尔夫管）侧部延伸的导管。这些导管在雄性胎儿中退化，但在雌性胎儿中形成输卵管、子宫、子宫颈和阴道上部。比较 **Wolffian duct**（**沃尔夫管**）。

Müllerian-inhibiting factor（MIF），苗勒氏管抑制因子。见 **Anti-Müllerian hormone**（**抗苗勒氏管激素**）。

Multicellular eukaryotic organism，多细胞真核生物：多个细胞维持在一起而形成一个功能性整体的真核生物；接下来的后代也形成相同的连贯性多细胞个体，包括植物、真菌和动物。

Multipotent cardiac progenitor cell，局限性多能心脏祖细胞：心区的祖细胞，形成心肌细胞、心内膜、心外膜、心脏的浦肯野纤维。

Multipotent stem cell，局限性多能干细胞：成体干细胞，它们的命运定型被局限于身体所有可能细胞类型的相对一小部分。

Mutualism，互利共生：一种形式的共生，其关系对双方都有益。

Myelencephalon，末脑：菱脑的后部分区；变成延髓。

Myelin sheath，髓鞘：被修饰的小突胶质细胞（在中枢神经）和施万细胞（在周围神经）的细胞膜，包裹神经细胞的轴突，为限定和加速轴突中传递的电脉冲提供绝缘。

Myoblast，成肌细胞：肌前体细胞。

Myocardium，心肌：心脏肌细胞。

Myoepithelia，肌上皮：具有上皮细胞和肌细胞特征的上皮，如水螅的两个上皮层。

Myofiber，肌纤维：成肌细胞融合形成的多核肌细胞；它们是骨骼肌细胞。

Myogenic regulatory factor（MRF），成肌调节因子：碱性螺旋 - 环 - 螺旋转录因子，如成肌分化因子、成肌因子 -5、成肌蛋白，它们是肌细胞发育的关键调节物。

Myogenin，成肌蛋白：一种成肌调节因子，调节多个参与骨骼肌细胞分化和修复的基因。见 **Myogenic regulatory factor（成肌调节因子）**。

Myostatin，肌生成抑制蛋白：希腊语，“肌肉阻止物”。负调节肌细胞发育的转化生长因子 -β 家族的成员。在某些哺乳动物，包括人，该基因或其负调节性微 RNA 的遗传缺陷导致大量肌细胞的发育。

Myotome，生肌节：除头部骨骼肌以外，形成脊椎动物身体所有骨骼肌的体节部分。生肌节含有两个部分：最接近神经管的近轴成分，形成背部和肋架的肌肉组织；远离神经管的远轴成分，形成肢和腹部体壁的肌肉组织。

N-cadherin，神经钙黏素：高度表达在发育的中枢神经系统（N 代表神经）细胞上的一类钙黏着蛋白。具有介导神经信号的作用。见 **Cadherin（钙黏着蛋白）**。

NAD$^+$ kinase，烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（辅酶 I）激酶：在海胆卵对精子的早期反应时被激活，将辅酶 I（NAD$^+$）转换成烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸，即还原型辅酶 II（NADP$^+$），后者被作为辅酶用于脂的生物合成，对卵裂过程所需的很多新细胞膜的构建可能有重要作用。还原型辅酶 II 也被用于产生烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸（NAADP）。

Naïve pluripotent state，初始多潜能状态：处在最未成熟和最未分化状态的胚胎干细胞，具有最大程度的多潜能性。

Nanos，Nanos 蛋白：对建立果蝇胚胎的前 - 后极性有关键作用的蛋白质。*nanos* 的 mRNA 被限定在卵母细胞的后端，并在排卵和受精后翻译。Nanos 蛋白从后端扩散，而 Bicoid 蛋白从前端扩散，形成一个建立胚胎前 - 后极性的反向浓度梯度。

Necrosis，坏死：毒性损伤的炎症等因素引起的病理性细胞死亡。比较 **Apoptosis（细胞凋亡）**。

Necrotic zone，坏死区：四足动物的肢被凋亡性（程序性）细胞死亡所“雕刻”的区域；“坏死”区这个术语是从坏死和细胞凋亡没有被区分的时候延续下来的。四个坏死区包括指 / 趾间、前部、后部和内部。

Negative feedback loop，负反馈环：一个过程的产物抑制该过程的早期步骤。

Neocortex，新皮质：大脑的一层灰质，是哺乳动物脑的特征；它分成六层神经元细胞体，每一层具有不同的功能特性。

Neoteny，幼态延续 在整个生命过程中保持幼态躯体的形态，但生殖系统成熟（如墨西哥蝾螈）。见 **Progenesis（性早熟）**。

Nephric duct，肾管。见 **Wolffian duct（沃尔夫管）**。

Nephron，肾单位：肾的功能单元。

Nerve growth factor（NGF），神经生长因子：主要参与神经细胞生长的神经营养因子。从潜在的靶组织释放出来，在短距离内为轴突导向行使趋化因子或斥化因子的功能。它对不同神经元的选择性存活也有重要作用。

Netrin，神经轴突导向因子：以梯度形式存在，引导轴突生长锥的旁分泌因子。它们对连合轴突和视网膜轴突的迁移有重要作用。神经轴突导向因子 -1 由神经管底板分泌；神经轴突导向因子 -2 由脊髓的下部区域分泌。

Neural crest，神经嵴：来自神经板侧缘，连接神经管和表皮的过渡性细胞带。它产生一个细胞群体，即神经嵴细胞，在神经管形成过程中脱离下来，通过迁移产生各种细胞类型和结构，包括感觉神经元、肠神经元、神经胶质、色素细胞，以及头部的骨骼和软骨。

Neural crest effector，神经嵴效应物：受神经嵴特化物激活的转录因子（例如，小眼畸形相关转录因子和 Rho 鸟苷三磷酸酶），赋予神经嵴细胞的迁移特性和一些分化特性。

Neural crest specifier，神经嵴特化物：特化神经板边缘的转录因子所诱导的一组转录因子（如 FoxD3、Sox9、Id、Twist、Snail），它们特化那些将要变成神经嵴的细胞。

Neural fold，神经褶：神经板增厚的侧缘，在神经胚形成过程中向上运动，并向背中线迁移，最终融合形成神经管。

Neural groove，神经沟：初级神经胚形成过程中在神经板中央产生的 U 字形沟。

Neural keel，神经龙骨：在鱼类胚胎上胚层的集中和延伸运动过程中被带到背中线的一条神经前体细胞带。它在中轴和轴旁中胚层上延伸，最终形成一个棒状组织，与表皮外胚层分离并发育出一个狭缝状的腔，变成神经管。

Neural plate，神经板：被特化成神经外胚层的背部外胚层区域。它随后向上折叠变成神经管。

Neural plate border，神经板边缘：神经板和表皮之间的边界。

Neural plate border specifier，神经板边缘特化物：受神经板诱导信号诱导的一组转录因子（如 Distalless-5、Pax3、Pax7），它们共同赋予神经板边缘区域形成神经嵴和背部神经管细胞类型的能力。它们也诱导神经嵴特化物的表达。

Neural plate inductive signal，神经板诱导信号：在原肠胚形成过程中，通过相互作用而特化神经和非神经外胚层边界的旁分泌因子（例如，骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子、Wnt 蛋白、Notch 蛋白）。在两栖类，脊索分泌的诱导信号足以特化神经板；在鸡中，腹部外胚层和轴旁中胚层分泌的信号特化神经及非神经外胚层的边界。

Neural restrictive silencer element（NRSE），神经限制性沉默子元件：见于多个小鼠基因的 DNA 调控序列，它能

阻止启动子在除了神经元以外的任何组织中激活，将这些基因的表达限制在神经系统。

Neural restrictive silencer factor（NRSF），神经限制性沉默因子：结合神经限制性沉默元件的锌指转录因子，表达在除了成熟神经元以外的所有细胞。

Neural retina，神经视网膜：源于视杯内侧，由分层排列的细胞组成，包括光和颜色敏感的光感受器细胞（视杆和视锥）、神经节细胞的细胞体、将电刺激从视杆和视锥传递到神经节细胞的双极中间神经元、维持视网膜完整性的苗勒氏胶质细胞、无长突细胞（缺少长的轴突），以及在视网膜平面传递电脉冲的水平神经元。

Neural stem cell（NSC），神经干细胞：在整个生命过程中都具有神经发生能力的中枢神经系统干细胞。在脊椎动物，神经干细胞保持它们的胚胎祖细胞（即放射状神经胶质细胞）的大部分特征。

Neural tube，神经管：中枢神经系统（脑和脊髓）的胚胎前体。

Neuroblast，成神经细胞：未成熟的分裂性前体细胞，能分化成神经系统的细胞。

Neurocranium，脑颅（神经颅）：头骨的颅盖和颅底。

Neuromesoderm progenitor（NMP），神经中胚层祖细胞：局限性多能祖细胞群体，具有形成神经管和轴旁中胚层的潜能，位于尾部的最后端。

Neuron，神经元：神经细胞；专门通过电和化学信号传导和输送信息的细胞。

Neuropore，神经孔：神经管前部和后部的两端开口（前神经孔和后神经孔），在后期闭合。

Neurotransmitter，神经递质：轴突末梢分泌的分子（如乙酰胆碱、γ-氨基丁酸、5-羟色胺）。这些分子穿过突触间隙，被邻近的神经元接收，以此中转神经信号。见 **Synapse（神经突触）**。

Neurotrophin/neurotropin，神经营养因子（亲神经素）：Neuro*trophic*（神经营养性；希腊语，“滋养”）指一个因子具有维持神经元存活的能力，通常是通过提供生长因子。Neuro*tropic*（亲神经性；拉丁语，“转向”）指一种吸引或排斥神经元的物质。因为很多因子兼有两种特性，这两个术语通常都被使用；新近的文献似乎偏好使用 Neurotrophin（神经营养因子）。见 **Nerve growth factor（神经生长因子）；Brain-derived neurotrophic factor（脑源性神经营养因子）；Conserved dopamine neurotrophic factor，CDNF（保守型多巴胺神经营养因子）；Neurotrophin 3 and 4/5（神经营养因子 -3 和 4/5）**。

Neurotrophin 3 and 4/5（NT3，NT4/5），神经营养因子 -3 和 4/5：神经营养因子 -3 吸引来自背根神经节的感觉神经元；神经营养因子 -4/5 吸引面部的运动神经元和小脑的颗粒细胞。

Neurula，神经胚：进行神经胚形成的胚胎（也就是神经管正在形成）。

Neurulation，神经胚形成：神经板折叠以及头部和尾部神经孔闭合形成神经管的过程。

Newt anterior gradient protein（nAG），蝾螈前部梯度蛋白：蝾螈的肢再生时，芽基中神经元分泌的因子，被认为是源于神经的因子，对芽基细胞的增殖是必需的。

Nieuwkoop center，Nieuwkoop 中心：两栖类囊胚最背部的植物极卵裂球，由于精子入卵所启动的皮质旋转而形成；它是胚胎背部的一个重要信号中心。其主要功能之一是诱导“组织者”。因 Peter Nieuwkoop 最早发现而被后人命名。

NMP，见 **Neuromesoderm progenitor（神经中胚层祖细胞）**。

Nodal，Nodal 蛋白：转化生长因子 -β 家族的成员和旁分泌因子，在脊椎和无脊椎动物中参与左右不对称的建立。

Node，原结：亨氏结的哺乳动物同源物。

Noggin，头蛋白：骨形态发生蛋白的拮抗剂（抑制骨形态发生蛋白信号）。

Noninvoluting marginal zone（NIMZ），非内卷边缘区：在进行原肠胚形成的两栖类胚胎的外部，不进行内卷的区域。它们与动物帽细胞通过外包而扩张，覆盖整个胚胎，最终形成表面外胚层。

Non-skeletogenic mesenchyme，非成骨间充质：源于海胆胚胎在 60 个细胞期时的 veg2 层细胞，形成色素细胞、免疫细胞和肌细胞。它也被称为次级间充质。

Notch protein，Notch 蛋白：Delta、Jagged 或 Serrate 的跨膜蛋白受体，参与近分泌相互作用。配体的结合引起 Notch 的构象变化，使其细胞质区域的一部分被早老素 -1 蛋白酶切割下来。被切割的部分进入细胞核后结合 CSL（哺乳动物 CBF-1、果蝇 Suppressor of hairless、线虫 Lag 蛋白的合称）家族的休眠状态转录因子。CSL 转录因子结合 Notch 后激活它们的靶基因。

Notochord，脊索：位于胚胎最背部的一个过渡性中胚层棒状结构，对诱导和图式化神经系统有重要作用。它是脊索动物的特征。

Nuclear RNA（nRNA），核 RNA：初始的转录产物。有时称为核内不均一 RNA（核内异质 RNA），或前体信使 RNA；它含有帽序列、5′ 非翻译区、外显子、内含子、3′ 非翻译区。

Nuclear RNA selection，核 RNA 选择：在不同类型的细胞类型中将核 RNA 群体的特定亚群加工成 mRNA 来控制基因的表达。

Nuclei pulposi，髓核：位于椎间盘中央的胶状团，源于脊索细胞。

Nucleosome，核小体：染色质结构的基本单位，由八聚体的组蛋白（各两个分子的组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4）被大约 147 个碱基对的 DNA 环绕两圈所组成。

Nucleus，核：①膜包裹的细胞器，容纳真核生物染色体。②脑神经元细胞体形成的组织化群集，具有特定的功能和连接。

Nurse cell，抚育细胞：为发育的卵提供营养物的细胞。在果蝇的卵巢管中，15 个相互连接的抚育细胞产生的 mRNA 和蛋白质被运输到一个发育中的卵母细胞。

Nymph，若虫：昆虫的幼体时期，像这个物种的未成熟成体。若虫经历一系列换羽后逐渐成熟。

Obesogen，肥胖素：在体内增高脂肪和脂肪细胞产量与积累的物质。多种环境激素，包括乙蔗酚和双酚 A，都被证明是肥胖素。

Obligate mutualism，专性互利共生：共生中的物种互相依赖，以至于缺少任何一个物种，另一个物种便不能存活。

Olfactory placode，嗅板：成对的表皮增厚，形成鼻黏膜上皮（味觉受体）和嗅神经的神经节。

Oligodendrocyte，小突胶质细胞：中枢神经系统的一类胶质细胞，将自身缠绕在轴突周围而形成髓鞘。也称为小突胶质。

Omphalomesenteric（umbilical）vein，脐肠系膜（脐）静脉：卵黄囊血岛形成的静脉。这些静脉为哺乳动物胚胎输送营养物，向胚胎与母体进行呼吸交换的位置输送气体，也从这个位置输出气体。

Oncogene，癌基因：促进细胞分裂、降低细胞黏附、阻止细胞死亡的调节性基因。它们能促进肿瘤的发生和转移。原癌基因是这些基因的正常版本，它们由于突变或不恰当的甲基化而高表达或错误表达时被称为癌基因，并能导致癌症。

Oocyte，卵母细胞：正在发育的卵。**初级卵母细胞**处在生长期，还没有经历减数分裂，具有一个二倍体的核。**次级卵母细胞**已经完成第一次减数分裂，但没有进行第二次减数分裂，是单倍体。

Oogonium，卵原细胞：进行有丝分裂的单个雌性生殖细胞。在这个时期之后，它变成初级卵母细胞。复数是 oogonia。

Optic cup，视杯：视泡内陷形成的双层室。

Optic nerve，视神经：神经视网膜轴突形成的脑神经（第二对脑神经），它们沿视柄迁移，转向脑生长。

Optic vesicle，视泡：延伸自间脑，并激活头部外胚层潜在的晶状体形成能力。

Oral plate，口板：口凹外胚层接触原始消化管内胚层的区域。它在后期开孔形成口腔的开口。

Organization/activation hypothesis，组织化 / 活化假说：性激素在哺乳动物生命的胎儿或新生儿期以性别特异的方式组织神经系统，同样的激素在成体具有短暂的动机性（或“激活性”）效应的学说。

Organizer，组织者：在两栖类，这是胚孔的背唇细胞及其衍生物（脊索和头部内中胚层）。在功能上对应于鸡的亨氏结、哺乳动物的原结、鱼类的胚盾。组织者的作用建立早期胚胎的基本形体构型。也称为 Spemann 组织者或（更准确地）Spemann-Mangold 组织者。

Organogenesis，器官发生：三个胚层细胞之间的相互作用和重排以形成组织和器官。

Organoid，类器官：发育不完全的器官，通常只有一粒豌豆的大小，由多能干细胞在体外培养时生长形成。

Orthologue，直系同源物：来自不同物种的基因具有相似的 DNA 序列，因为这些基因都继承自一个共同祖先。比较 **Paralogue（旁系同源物）**。

Oskar，Oskar 蛋白：在卵的后部区域结合 *nanos* 的 mRNA，参与建立果蝇卵和未来胚胎的前 - 后轴；*nanos* 将建立未来胚胎的后端。

Ossification，骨化：见 **Osteogenesis（骨发生）**。

Osteoblast，成骨细胞：命运被决定的骨前体细胞。

Osteoclast，破骨细胞：源于血细胞谱系的多核细胞，通过血管进入骨，在骨重塑过程中破坏骨组织。

Osteocyte，骨细胞：骨骼细胞。来自嵌入钙化的类骨质中的成骨细胞。

Osteogenesis，骨发生：骨骼形成；经过破骨细胞到成骨细胞，再到骨细胞的进程，间充质转变成骨骼组织。见 **Endochondral ossification（软骨内成骨）**；**Intramembranous ossification（膜内成骨）**。

Osteoid matrix，类骨质：成骨细胞分泌的胶原蛋白 - 蛋白聚糖，具有结合钙的能力。

Otic placode，听（基）板：成对的表皮增厚，内陷形成内耳迷路，它们的神经元形成听神经节，使我们能听到声音。

Outer radial glia（oRG），外层放射状神经胶质细胞：驻留在大脑的室管膜下区的祖细胞，产生中间祖细胞。

Outflow tract，流出道：在发育中的心脏，由动脉圆锥和动脉干组成；变成主动脉和肺动脉的基部。

Oval cell，卵圆细胞：肝中的祖细胞群体，在肝细胞自身不能充分再生肝时，这些细胞分裂形成新的肝细胞和胆管细胞。

Ovariole，卵巢管：果蝇的卵室。

Oviparity，卵生：幼体从母体排出到体外的卵中孵化出来，例如，鸟类、两栖类，以及多数无脊椎动物。

Ovoviviparity，卵胎生：幼体从母体容纳的卵中孵化出来后继续在母体内发育一段时间，如某些爬行动物和鲨鱼。比较 **Viviparity（胎生）**。

Ovulation，排卵：卵从卵巢中释放出来。

Ovum，卵细胞：成熟的卵（处在被受精的减数分裂期）。复数是 ova。

p53，p53 蛋白：终止细胞周期、使快速分裂的细胞衰老、指令细胞凋亡的起始和激活 DNA 修复酶的转录因子。它是最重要的细胞分裂调节物之一。

Pachytene，粗线期：希腊语，“粗的线”。第一次减数分裂前期 I 的第三时期，这时染色单体变粗和变短，在光学显微镜下能观察到单独的染色单体。遗传物质的交换发生在这个时期。

Pair-rule gene，成对规则基因：受裂隙基因调节的果蝇合子基因。每个成对规则基因的表达形成 7 个条纹，将胚胎分割成垂直于前 - 后轴的横带。成对规则基因的突变体使每个其他体节的一部分缺失。

PAL-1，PAL-1 蛋白：秀丽隐杆线虫卵母细胞中母体表达的转录因子，对 P1 谱系的细胞的分化是必需的。P1 是二细胞期胚胎的一个细胞。

PAR protein，分隔缺陷蛋白：表达在秀丽隐杆线虫卵母细胞的细胞质；在受精后参与决定胚胎的前 - 后轴。

Paracrine factor，旁分泌因子：分泌的扩散性蛋白，它们提供的信号使相邻的细胞和组织相互作用并改变它们的细胞行为。

Paracrine signaling，旁分泌信号传递：将旁分泌因子分泌到细胞外基质，使细胞之间产生远距离信号传递。

Paralogue，旁系同源物：基因之间序列的相似性是因为它们源于一个祖先物种的基因重复事件。比较 **Orthologue**（**直系同源物**）。

Parasegment，副体节：果蝇中的一个“跨体节”单元，包括前一体节的后部区室和紧邻的后一体节的前部区室；这似乎是胚胎基因表达的基本单元。

Parasitism，寄生（现象）：一种类型的共生，其中一个伙伴以另一个伙伴为代价而获益。

Parasympathetic（enteric）ganglion，副交感（肠）神经节：源于迷走和骶神经嵴的副交感（“休息和消化”）神经系统的神经节。

Paraxial（somitic）mesoderm，轴旁（体节）中胚层：紧邻神经管和脊索的胚胎中胚层厚带。在躯干部分，轴旁中胚层形成体节，在头部，它与神经嵴共同形成骨骼、结缔组织、颅面部的肌肉组织。

Paraxial protocadherin，轴旁原钙黏着蛋白：在两栖类原肠胚形成过程中特异表达在轴旁（形成体节）中胚层的黏着蛋白；对集中和延伸运动至关重要。

Parietal endoderm，体壁内胚层：接触哺乳动物滋养层细胞的原始内胚层细胞。见 **Primitive endoderm**（**原始内胚层**）。

Parietal mesoderm，体壁中胚层。见 **Somatic mesoderm**（**体壁中胚层**）。

Parthenogenesis，孤雌生殖：希腊语，“天孕”。卵细胞在没有精子的情况下被激活。在很多无脊椎动物和某些脊椎动物，以这种方式激活的卵子能正常发育。

Pathway selection，路径选择：特化轴突连接的第一步，轴突沿着将它们引导至胚胎特定区域的路线迁移。

Pattern formation，图式形成：胚胎细胞形成分化组织的有序性空间排列的一系列过程。

P-cadherin，胎盘钙黏着蛋白（钙黏素）：主要在胎盘表达的一类钙黏着蛋白，它帮助胎盘与子宫黏着（P 代表胎盘）。见 **Cadherin**（**钙黏着蛋白**）。

Pericardial cavity，围心腔：包围心脏的体腔分区。比较 **Peritoneal cavity**（**腹膜腔**）；**Pleural cavity**（**胸膜腔**）。

Perichondrium，软骨膜：除关节以外，多数软骨周围的结缔组织。

Pericyte，周细胞：在血管发生过程中，受到招募，以覆盖内皮细胞的平滑肌样细胞。

Periderm，周皮：胚胎的暂时性表皮样覆盖物，它在内层分化成真正的表皮时脱落。

Periosteal bone，骨膜骨：通过膜内成骨增加长骨厚度和源于中胚层的骨骼。

Periosteum，骨（外）膜：含有结缔组织、毛细血管、骨祖细胞的纤维鞘，包裹发育过程和成体的骨骼。

Peritoneal cavity，腹膜腔：包围腹部器官的体腔分区。比较 **Pericardial cavity**（**围心腔**）；**Pleural cavity**（**胸膜腔**）。

Permissive interaction，容许性相互作用：诱导性相互作用，应答组织已经被特化，仅需要一个使这些性状能够表达的环境。

P-granule，P 颗粒：秀丽线虫的生殖质。在卵裂早期被隔离到单个的种系前体细胞（P4 卵裂球）。

Pharyngeal arch，咽弓：成对的间充质组织棒（源于轴旁中胚层、侧板中胚层、神经嵴细胞），在内外侧分别被内胚层和外胚层覆盖。邻近脊椎动物胚胎的咽部，咽弓在鱼类形成鳃的支架，在其他脊椎动物形成面部、颌部、口部和喉部的很多骨骼与结缔组织结构。也称为鳃弓。

Pharyngeal cleft，咽沟：分隔咽弓的外部外胚层裂缝（内陷）。羊膜类的早期胚胎有 4 对咽沟，但只有第一对变成一个结构（外耳道）。

Pharyngeal pouch，咽囊：咽内的咽上皮（内胚层）向外侧突出，在咽弓之间产生成对的囊状结构。咽囊形成咽鼓管、扁桃体壁、胸腺、甲状旁腺和甲状腺。

Pharyngula，咽胚期：经常用来描述脊椎动物胚胎神经胚后期的术语。

Pharynx，咽：呼吸管分支点前部的消化管区域。

Phenotypic heterogeneity，表型异质性：相同的突变在不同的个体中产生不同的表型。

Phenotypic plasticity，表型可塑性：生物体通过改变形态、状态、运动或活动程度而应答环境输入的能力。

Pheromone，信息素（外激素）：一个个体释放的气化性化学物质，与另一个体进行信息传递。信息素被很多哺乳动物的犁鼻器识别，在性行为中有主要作用。

Phosphatidylinositol 4，5-bisphosphate（PIP_2），磷脂酰肌醇 4，5- 双磷酸：一种膜磷脂，在肌醇三磷酸途径中被磷脂酶 C 裂解后产生两个活性化合物：肌醇三磷酸和二酰甘油。肌醇三磷酸途径在受精过程中被激活，启动多精

入卵的慢阻断，并激活卵开始发育。

Phospholipase C（PLC），磷脂酶 C：肌醇三磷酸途径中的酶，将膜结合的磷脂酰肌醇 4,5- 双磷酸裂解成肌醇三磷酸和二酰甘油。

Phylotypic stage，种系特征性发育时期：体现一个动物门特征的时期，如脊椎动物的神经胚晚期或咽胚期，这个时期似乎相对稳定，并且限制其演变。

Pial surface，软脑膜表面：脑的外表面；紧邻脑膜中的软膜。

PIE-1，PIE-1 蛋白：秀丽隐杆线虫卵母细胞中的母体转录因子，对种系细胞的命运是必需的。

Pigmented retina，色素视网膜：脊椎动物眼含有黑素的一层，排列在神经视网膜后部。它由视杯的外层形成。黑素吸收通过神经视网膜的光，阻止它反射回神经视网膜，否则将会使感知的图像变形。

Pioneer nerve fiber，先锋神经纤维：在其他轴突前部迁移，并为它们导向的轴突。

Pioneer transcription factor，先锋转录因子：能够穿入被抑制的染色质，并与它们的增强子 DNA 序列结合的转录因子（如 FoxA1 和 Pax7），这是建立某些细胞谱系的关键环节。

Piwi，Piwi 蛋白：在生殖细胞中与 Tudor、Vasa、Nanos 蛋白共同表达，抑制基因表达的蛋白质之一。

Placenta，胎盘：在胎盘哺乳动物中作为胎儿和母体循环的界面，具有内分泌、免疫、营养和呼吸功能的器官。它由一个母体部分（在妊娠过程中被改变的子宫内膜，或蜕膜）和一个胎儿成分（绒毛膜）组成。

Placode，基板：外胚层增厚的区域。包括：颅基板（嗅、晶状体和听基板）；皮肤附属器的表皮基板，如毛发和羽毛，这些基板通过真皮间充质和外胚层上皮之间的诱导性相互作用而形成。

PLC，见 **Phospholipase C**（**磷脂酶 C**）。

PLC ζ（Phospholipase C zeta），磷脂酶 C ζ：可溶形式的磷脂酶 -C，存在于哺乳动物精子的头部，在受精的配子融合过程中被释放出来。它在卵中启动肌醇三磷酸途径，导致钙离子的释放和卵的激活。

Pleiotropy，多效性：一个基因或一对基因产生多种效应。

Pleural cavity，胸膜腔：包围肺的体腔分区。比较 **Pericardial cavity**（**围心腔**）；**Peritoneal cavity**（**腹膜腔**）。

Pluripotent，多能性：拉丁语，“能做很多事情”。单个多能干细胞具有产生不同细胞类型的能力，这些细胞发育自三个胚层（外胚层、中胚层和内胚层），产生身体的所有细胞。哺乳动物的内细胞团细胞具有多能性，是胚胎干细胞。内细胞团中的每个细胞都能产生身体的任何细胞类型，但因为有内细胞团和滋养层之分，内细胞团细胞被认为不能形成滋养层。生殖细胞和生殖细胞瘤（如畸胎瘤）也能形成多能干细胞。比较 **Totipotent**（**全能性**）。

Pluripotent hematopoietic stem cell，多能造血干细胞。见 **Hematopoietic stem cell（HSC），造血干细胞**。

Pluteus larva，长腕幼体：海胆和蛇星的幼体类型；它们是两侧对称的浮游性幼体，具有纤毛和骨骼针支撑的长臂。

Polar body，极体：卵母细胞不对称减数分裂过程中产生的小细胞，几乎不含任何细胞质。第一极体是单倍体，来自第一次减数分裂；第二极体也是单倍体，来自第二次减数分裂。

Polar granule component（PGC），极粒成分：对种系特化极为重要，定位在果蝇极粒中的蛋白质。极粒成分通过阻止 RNA 聚合酶 II 的磷酸化而抑制体细胞决定基因的转录。

Polar granule，极粒：定位于果蝇的极细胞质（生殖质）和极细胞的颗粒，这些颗粒含有一些对生殖系的特化有重要作用的因子。

Polar lobe，极叶：某些螺旋卵裂的胚胎（主要是软体动物和环节动物门）在第一次卵裂之前，有时在第二次卵裂之前挤出的无核细胞质泡。它含有维持正确卵裂节律和 D 卵裂球卵裂方向的决定物。

Polarization，极性化：细胞迁移的第一步，受扩散性信号（如趋化性蛋白）或来自细胞外基质的信号引导，一个细胞确定其前缘和尾端。这些信号将重组细胞骨架，使细胞的前缘以新聚合的肌动蛋白形成片足（或丝足）。

Pole cell，极细胞：果蝇胚胎中大约有 5 个细胞核在第 9 个分裂周期时移动到后极的表面，被细胞膜包裹。这些极细胞产生成体的配子。

Pole plasm，极质：果蝇卵母细胞后极的细胞质，含有形成腹部和生殖细胞的决定物。

PolyA tail，多腺苷酸尾：细胞核中的酶促反应在 mRNA 转录物的 3′ 端添加的一系列腺嘌呤（A）残基。多腺苷酸尾赋予 mRNA 稳定性、使 mRNA 出核，并使 mRNA 翻译成蛋白质。

Polyadenylation，多腺苷酸化：在 RNA 转录物的 AAUAAA 序列下游大约 20 个碱基处插入 200 ～ 300 个腺苷酸残基的“尾”。多腺苷酸尾：①赋予 mRNA 稳定性，②使 mRNA 出核；③使 mRNA 翻译成蛋白质。

Polycomb protein，多梳蛋白：结合凝缩的核小体，将基因维持在失活状态的一个蛋白家族。

Polydactyly，多指（趾）畸形：存在额外的（多余的）指（趾），如大比利牛斯犬的上爪。

Polyphenism，非遗传多型性：一种类型的表型可塑性，指环境引发的不连续（“非此即彼”）表型。比较 **Reaction norm**（**反应规范**）。

Polyspermy，多精入卵：受精过程中多于一个精子入卵，导致非整倍性（异常的染色体数目）和死亡或异常发育。一个例外是发生在某些生物的生理性多精入卵，例如，果蝇和鸟类，虽然多个精子入卵，但只有一个精原核与

卵原核融合。

Polytene chromosome，多线染色体：果蝇幼体细胞（但不是产生成体的成虫盘细胞）中的染色体，DNA 经历多轮复制但不分离，形成很容易观察和显示活跃基因转录的大“泡芙”（意大利蓬松的糕点）。

Population asymmetry，群体不对称性：在一个干细胞群体中维持稳态的方式，其中一些细胞更易于产生分化的子代，而其他细胞继续分裂以维持干细胞储备。

Posterior marginal zone（PMZ），后缘区：鸡胚胎胚盘层的末端，原条在这个位置开始形成，其作用对应于两栖类胚胎的 Nieuwkoop 中心。后缘区细胞起始原肠胚形成，并阻止边缘区的其他区域形成原条。

Posterior necrotic zone，后部坏死区：发育过程中的四足动物肢后侧的一个程序性细胞死亡的区域，帮助塑造肢。

Posterior neuropore，后神经孔。见 **Neuropore（神经孔）**。

Postsynaptic cell，突触后细胞：接收突触前神经元的化学神经递质的靶细胞，这些神经递质导致靶细胞膜的去极化或超极化。

Posttranslational regulation，翻译后调节：决定翻译后的蛋白质是否具有活性的修饰。这些修饰包括切割一个抑制性多肽序列；隔离或靶向到特定的细胞区域；与其他蛋白组装成一个功能性单位；结合一种离子（如钙离子）；或共价添加一个磷酸或乙酰基团。

Potency，潜能：指干细胞产生不同类型的分化细胞的能力。

Prechordal plate mesoderm，索前板中胚层：头部中胚层的前体。这些中胚层细胞在原肠胚形成时在脊索中胚层之前向内移动。

Precursor cell（precursor），前体细胞（前体）：广泛使用的术语，代表一个特定谱系（例如，神经元前体，血细胞前体）的任何祖先细胞类型（干细胞或祖细胞）。

Predator-induced polyphenism，反捕食多型性：在捕食者存在的情况下调整发育的能力，以表现出更具防御性的表型。

Preeclampsia，先兆子癫：孕妇的医学状态，其特征是高血压、肾过滤不良、胎儿窘迫。这是早产以及胎儿和产妇死亡的主要原因。

Preformationism，先成说：早期显微镜使用者马尔皮基支持的一个观点，认为胚胎的器官早以微小的形式存在于卵子（或精子）。一个推论，即**嵌套论**（封装），认为下一代早以一种预制状态存在于先前预制的一代的生殖细胞，因此保持物种的稳定性。

Preimplantation genetics，胚胎植入前遗传学诊断：将胚胎植入子宫之前，用来自体外受精的胚胎卵裂球检测遗传疾病。

Pre-initiation complex，转录起始前复合物：启动子上的 RNA 聚合酶 II 与增强子上的转录因子被中介体分子带到一起所形成的复合物。见 **Mediator（中介体）**。

Pre-metamorphosis，预变态：两栖类变态的第一个时期；甲状腺开始成熟并分泌低水平的四碘甲腺原氨酸和极低水平的三碘甲腺原氨酸。甲状腺素受体 -α 表达，但甲状腺素受体 -β 不表达。

Prenatal diagnosis，产前诊断：在婴儿出生前用绒毛膜绒毛穿刺取样或羊水腔穿刺术诊断很多遗传疾病。

Presomitic mesoderm（PSM），前体节中胚层：将形成体节的中胚层。也称为体节板。

Presynaptic neuron，突触前神经元：传递化学神经递质到靶细胞的神经元；这些神经递质引起靶细胞膜的去极化或超极化。

Primary capillary plexus，初级毛细血管丛：在血管发生过程中，内皮细胞形成的毛细血管网络。

Primary cilium，初级纤毛：见于多数细胞的单个非运动性纤毛；这些纤毛缺少一对中央微管，它们使用引擎蛋白在其微管上传送信号分子，部分地参与 Hedgehog 信号传递途径。

Primary embryonic induction，初级胚胎诱导：背轴和中枢神经系统与其下部的中胚层（来自两栖类胚胎的背胚孔唇）相互作用而形成的过程。

Primary larva，初级幼体：形体构型与成体的形式有显著差异，在形态上不同于成体的幼体；海胆的长腕幼体就是这种幼体。比较 **Secondary larva（次级幼体）**。

Primary neurulation，初级神经胚形成：神经管前部形成的过程。神经板周围的细胞引导神经板细胞增殖、内陷，并从表面脱离以形成一个中空的管。

Primary oocyte，初级卵母细胞：发育过程中的卵，经历了卵原细胞期，处在任何减数分裂前的生长期。它含有一个称为生发泡的大细胞核。在这个时期，mRNA（母体 mRNA）被合成并在卵中储存。在哺乳动物，初级卵母细胞在排卵前一直停滞在第一次减数分裂前期，在排卵时完成第一次减数分裂，变成次级卵母细胞。然后，第二次减数分裂停滞，直到受精后才完成。

Primary sex determination，初级性别决定：决定生殖腺形成含有卵的卵巢，或形成含有精子的精巢。初级性别决定受控于染色体，在哺乳动物中通常不受环境影响，但在其他脊椎动物中能被环境影响。

Primary spermatocyte，初级精母细胞：来自 B 型精原细胞的有丝分裂，这是一些首先经历一个时期的生长，然后进入减数分裂的细胞。

Primaxial muscle，近轴肌：肋骨间的肋间肌和背部的深层肌，它们形成自最接近神经管的生肌节中的成肌细胞。

Primed pluripotent state，待发多能状态：胚胎干细胞向上胚层谱系完成了一定程度的成熟的状态。

Primitive endoderm，原始内胚层：在哺乳动物的早期发育过程中，内细胞团分离成两层时形成的内胚层细胞层。这层细胞位于下层，与囊胚腔相接触，是原始内胚层，

并且与鸟类胚胎的下胚层同源。它将形成卵黄囊的内壁，并将被用于定位原肠胚形成的位点、调节上胚层细胞的运动、促进血细胞的成熟。这是一个胚外层，不为胚胎本体提供细胞。

Primitive groove，原沟：原条中形成的凹陷，作为一个开口使迁移性细胞进入胚胎的深层。

Primitive knot/pit，原结 / 原窝：见 **Hensen’s node（亨氏结）**。

Primitive streak，原条：羊膜动物原肠胚形成的首个形态标志，它首先产生于明区后缘上胚层的局部增厚，称为 Koller 镰形区。这是两栖类胚孔的同源物。

Primordial germ cell（PGC），原生殖细胞：配子的祖细胞，通常源于胚胎的其他位置，迁移到发育的生殖腺。

Proacrosin，前顶体素：不具有活性的哺乳动物精子蛋白酶，储存于顶体，在顶体反应过程中释放并被激活，帮助精子穿过卵的透明带。

Proerythroblast，原红细胞：红细胞的前体。

Progenesis，性早熟：生殖腺和生殖细胞比身体其他部分发育速度快的状态，动物在性成熟时身体的其他部分仍处在幼态阶段。比较 **Neoteny（幼态延续）**。

Progenitor cell，祖细胞：相对未分化的细胞，在分化前具有几次分裂的能力，但不同于干细胞，这些细胞不能无限的自我更新。它们有时被称为**过渡性扩增细胞**，因为它们在迁移时进行分裂。

Progeria，早老症：过早老龄化的综合征；在人和小鼠中似乎被一些阻止 DNA 修复酶行使功能的突变所导致。

Progesterone，孕酮：在哺乳动物中对维持妊娠有重要作用的一种类固醇激素。卵丘细胞分泌的孕酮能作为精子的趋化因子。

Programmed cell death，程序性细胞死亡。见 **Apoptosis（细胞凋亡）**。

Progress zone（PZ），渐进带：紧位于外胚层顶嵴下部的高度增殖性肢芽间充质。肢芽的近 - 远端生长和分化是外胚层顶嵴和渐进带之间一系列相互作用的结果。也称为未分化带。

Progress zone model，渐进带模型：肢的近 - 远端特化模型，这个模型假设每个中胚层细胞被它在渐进带中分裂的时间所特化。一个细胞处在渐进带中的时间越长，它就会完成更多的有丝分裂，因此它的特化变成更为远端。

Prometamorphosis，前变态：两栖类变态的第二个时期，甲状腺在这个过程中成熟并分泌更多的甲状腺激素。

Promoter，启动子：基因的一个区域，含有能够结合 RNA 聚合酶 II 以起始转录的 DNA 序列。见 **CpG island（CpG 岛）**；**Enhancer（增强子）**。

Pronephric duct，原肾管：源于居间中胚层，向后迁移并诱导邻近的间充质形成原肾，或胚胎初始肾的小管。原肾管在鱼类和两栖类幼体形成功能性的肾，但被认为在羊膜动物中不发挥作用。原肾管在不断向下生长时诱导中肾间充质形成一些小管，这时它被称为中肾管。也称为沃尔夫管和肾管。

Pronephros，原肾：脊椎动物中形成肾小管的第一个肾间充质区域。原肾在鱼类和两栖类幼体中形成功能性的肾，但被认为在羊膜动物中不发挥作用，它在肾的其他区域发育后退化。

Pronucleus，原核：受精卵中的雄性和雌性单倍体核，它们融合形成合子的二倍体核。

Pronymph，预若虫：不变态昆虫中紧随孵化后的时期，这时的生物体具有一些能使它脱离卵的结构；在这个时期之后，昆虫看似像一个小成体。

Prosencephalon，前脑：发育中的脊椎动物脑最前端的脑泡。它将形成两个次级脑泡：端脑和间脑。

Protamine，鱼精蛋白：通过二硫键紧密压缩的碱性蛋白，包装精子细胞核的 DNA。

Protein-protein interaction domain，蛋白质相互作用域：转录因子的一个区域，使它在启动子或增强子上与其他蛋白质相互作用。

Proteoglycan，蛋白聚糖：大的细胞外基质分子，由核心蛋白（如黏结蛋白聚糖）共价连接糖胺聚糖的多糖侧链所组成。最普遍的两个蛋白聚糖是硫酸乙酰肝素蛋白聚糖和硫酸软骨素蛋白聚糖。

Proteome，蛋白质组：基因组编码的蛋白质的数量和类型。

Prothoracic gland，前胸腺：昆虫中分泌蜕皮素（一种换羽激素）的腺体；蜕皮素的产生受促前胸腺激素的刺激。

Prothoracicotropic hormone（PTTH），前胸腺激素：在昆虫中被脑的神经分泌细胞在应答神经、激素或环境性信号时释放而启动换羽过程的肽激素。前胸腺激素刺激前胸腺产生蜕皮素。

Protocadherin，原钙黏着蛋白：一类缺少通过联蛋白与肌动蛋白骨架附着的钙黏着蛋白。它们是维持迁移性上皮的重要手段，在脊索形成时对其从周围中胚层的分离有重要作用。

Protostome，原口动物：希腊语的“第一”和“口”。从胚孔形成口部的动物，如软体动物。比较 **Deuterostome（后口动物）**。

Proximal-distal axis，近 - 远轴：从近端到远端的轴向，如肩 - 指或臀 - 趾轴（相对于身体的中心）。

Pseudohermaphroditism，假两性畸形：第二性征与生殖腺性别所预期的特征不一致的雌雄间体状态。雄性假两性畸形（如雄激素不敏感综合征）描述生殖腺性别是雄性但第二性征是雌性的状态，而雌性假两性畸形描述相反的状态（如类固醇 21- 羟化酶缺乏症）。

Pupa，蛹：完全变态昆虫在最后一龄的非进食时期，这时生物体正在经历变态，从幼体转变为成体（成虫）。

Purkinje fiber，浦肯野纤维：心室内壁中被改变的心肌细胞，专用于快速传递收缩性信号。在羊膜动物中对同步心室

收缩有重要作用。

Purkinje neuron，浦肯野神经元：大的多分支神经元，是小脑的主要细胞类型。

R-cadherin，R 型钙黏着蛋白：对形成视网膜至关重要的一类钙黏着蛋白（R 代表 retina，视网膜）。见 **Cadherin**（**钙黏着蛋白**）。

RA，见 **Retinoic acid**（**视黄酸**）。

Radial glial cell（radial glia），放射状神经胶质细胞（放射状胶质）：在发育的脑中，位于室管膜区的神经祖细胞。它们在每次分裂时产生另一个室管膜区的细胞和一个离开室管膜区进行分化的更为定型的细胞类型。

Radial holoblastic cleavage，辐射完全卵裂：棘皮动物的卵裂图式。将卵完全分割成独立细胞（完全卵裂）的卵裂面平行于或垂直于卵的动物 - 植物极轴。

Radial intercalation，径向嵌插：在鱼类胚胎，深层的上胚层细胞进入表面的上胚层，在原肠胚形成过程中帮助推动外包。

Random epigenetic drift，随机表观遗传漂移：DNA 甲基化和脱甲基化酶产生的错误导致不正确的表观遗传甲基化的偶然性积累可能是老龄化和癌症的重要因素的假说。

Ras，Ras 蛋白：受体酪氨酸激酶途径中的 G 蛋白。*RAS* 基因的突变是大部分恶性人类肿瘤的原因。

Rathke's pouch，拉司克囊：口部顶壁外胚层形成的外向凸出，在脊椎动物中形成垂体的腺体部分。它与间脑底壁的外向凸出所形成的漏斗相接触，漏斗将形成垂体的神经部分。

Reaction norm，反应规范：一类表型可塑性，基因组具有编码连续范围的潜在表型的潜力；个体遇到的环境决定潜在表型的发育。比较 **Polyphenism**（**非遗传多型性**）。

Reaction-diffusion model，反应 - 扩散模型：发育图式化的模型，尤其是肢的图式化，其中两个均匀分布的物质（一个激活物，物质 *A*，自身激活且独立产生；另一个快速扩散的抑制物，物质 *I*）在形态发生过程中相互作用以产生稳定的复杂图式。根据数学家阿兰 • 图灵在 20 世纪 50 年代早期提出的这个模型，这种反应 - 扩散机制产生的图式代表这两种物质的局部浓度差异。

Reactive oxygen species（ROS），活性氧化类：损伤细胞膜和蛋白质，并破坏 DNA 的代谢副产物。活性氧化类由于氧原子的不完全还原而在线粒体中产生，包括超氧离子、羟（"自由"）基、过氧化氢。

Receptor，受体：结合配体的蛋白。见 **Ligand**（**配体**）。

Receptor tyrosine kinase（RTK），受体酪氨酸激酶：具有一个胞外域、一个跨膜域和一个胞质域的跨细胞膜受体。配体（旁分泌因子）结合胞外域后引起受体胞质域的构象变化，激活激酶的活性，这些激酶利用 ATP 以磷酸化特定蛋白质的特殊酪氨酸残基。

Reciprocal induction，相互诱导：诱导的普遍序列性特征：一个组织诱导另一个组织，被诱导的组织反过来作用于初始的诱导组织并对它进行诱导，因此诱导物也受到诱导。

Reelin，Reelin 蛋白：在发育中的小脑和大脑表达的细胞外基质蛋白。在小脑，当神经元迁移和成层时，它使神经元结合神经胶质细胞；在大脑，它引导神经元向软脑膜表面迁移。

Regeneration，再生：重新形成被损伤、被外伤或疾病破坏的身体结构或器官的能力。

Regeneration blastema，再生芽基：一组相对未分化的细胞被位于切面的旁分泌因子组织成新的结构。这些细胞可以来自截断位置附近的分化组织，它们通过去分化，经过一个时期的有丝分裂后重新分化成缺失的结构，如蝾螈肢的再生；也可以来自迁移到切面的多能干细胞，如扁虫的再生。

Regenerative medicine，再生医学：用于细胞治疗的方法修正遗传疾病（如镰状细胞贫血）或修复损伤的器官。

Regulation，调节：重新特化细胞的能力，致使注定变成一个特殊结构的细胞的去除能被其他产生相同结构的细胞所补偿。这种调节见于一些只形成初始胚胎的一部分结构的细胞产生一个完整的胚胎；也见于两个或多个早期胚胎形成一个嵌合个体，而不形成双胎、三胎或一个多头个体的能力。

Relational pleiotropy，相关多效性：一个基因在胚胎一个部分中的作用影响其他部分，这不是因为它在那些部分表达，而是因为它启动了影响那些部分的一系列事件。

Reporter gene，报道基因：易于识别，通常在目的细胞中不表达的基因产物。它们可被融合到目的基因的调控元件，插入到胚胎，然后检测报道基因的表达。如果调控序列含有增强子，报道基因将会在特定的时间和位置被激活。绿色荧光蛋白和 β- 半乳糖苷酶的基因是普遍应用的报道基因。

Resact，呼吸活化肽：从紫海胆（*Arbacia punctulata*）卵胶膜中分离出来的 14 个氨基酸肽，它对同物种的精子具有趋化因子和精子活化肽作用，也就是说它具有物种特异性，因此是保证物种特异性受精的机制。见 **Sperm-activating peptide**（**精子活化肽**）。

Resegmentation，再分节：见于生骨节形成椎骨的过程；每个生骨节的前段与其前位生骨节的后段重新组合，形成椎骨原基，这样能保证来自生肌节的脊柱肌肉协调骨骼的运动，使身体能侧向运动。

Respiratory tube，呼吸管：未来的呼吸道，来自咽上皮的外向凸出，最终分叉成两个肺。

Responder，应答物：在诱导过程中被诱导的组织。应答组织的细胞必须具有诱导分子的受体，并具备应答诱导物的反应能力。

Resting membrane potential，静息膜电位：一个细胞维持的膜电位（膜电压），受细胞膜两侧的离子浓度决定。一般情况下是 -70mV，细胞内相对于细胞外带负电。

Rete testis，睾丸网：将精子从生精小管输送到输出小管的细管网络。

Reticulocyte，网织红细胞：来自细胞核被逐出的哺乳动物成红血细胞。尽管网织红细胞没有细胞核，不能转录珠蛋白的 mRNA，但它们可以将已有的信使 RNA 翻译成珠蛋白。网织红细胞分化成不再进行翻译的成熟红细胞。

Retina，视网膜。见 **Neural retina（神经视网膜）**。

Retinal ganglion cell（RGC），视网膜神经节细胞：眼的视网膜神经元，其轴突被引导至脑的视顶盖。导向信息来自神经轴突导向因子、slit 蛋白、semaphorin 蛋白和肝配蛋白家族的分子。

Retinal homeobox（Rx），视网膜同源异形框：视网膜同源异形框基因编码的转录因子。它们在眼场表达，参与视网膜的特化。

Retinoic acid（RA），视黄酸：维生素 A 的衍生物和参与前 - 后轴形成的形态发生素。接收高水平视黄酸的细胞表达后部基因。

Retinoic acid-4-hydroxylase，视黄酸 4- 羟化酶：降解视黄酸的酶。

Retinotectal projection，视网膜顶盖投射：视网膜与视顶盖连接的分布图。视网膜细胞与顶盖细胞的点对点对应使动物能看到一个完整的图像。

Reverse development，逆发育：一个生物的成熟期转变成其生命周期中的更幼态期。见于某些水螅物种，性成熟的成体期水母体能返回到水螅体时期。

Reverse genetics，反向遗传学（反求遗传学）：在一个生物中沉默或降低一个基因的表达，然后分析其表型的遗传学技术。比较 **Forward genetics（正向遗传学）**。

Rho GTPase，Rho 鸟苷三磷酸酶：一个家族的分子，包括 RhoA、Rac1 和 Cdc42，它们将可溶性肌动蛋白转变成锚定在钙黏着蛋白上的纤维状肌动蛋白索。这能通过片足和丝足介导细胞迁移，也能介导钙黏着蛋白依赖的细胞骨架重塑。

Rhombencephalon，菱脑：后脑，发育中的脊椎动物脑最后端的脑泡；它将形成两个次级脑泡：后脑和末脑。

Rhombomere，菱脑节：将菱脑分成更小区室的间隔性膨大，每个菱脑节有不同的命运和不同关联的神经节。

Right-left axis，左 - 右轴：身体两侧的特化。

Ring canal，环管：在果蝇的卵巢管中变成卵和抚育细胞的包囊细胞之间的细胞质连接。

RNA interference，RNA 干扰：微 RNA 降解它们的 mRNA 而抑制基因表达的过程。

RNA polymerase II，RNA 聚合酶 II：在 DNA 上结合启动子的酶，它被激活后能催化 RNA 从 DNA 的转录。

RNA-induced silencing complex（RISC），RNA 诱导的沉默复合物：含有多个蛋白质和一个微 RNA 的复合物，它能结合信使 RNA 的 3′ 非翻译区，并抑制翻译。

RNA-Seq（RNA sequencing），RNA 测序：用二代测序技术对一个生物样品中的 RNA 进行测序和量化。

Robo protein，Robo 蛋白。见 **Roundabout protein（Roundabout 蛋白）**。

Robustness（canalization），稳健性（渠化性）：一个生物在来自环境或来自突变的干扰下仍能发育出相同表型的能力。它是发育模块内部和之间相互作用的结果。

Rod，视杆：脊椎动物眼的神经视网膜的光感受器细胞，它们比视锥对弱光更敏感。这些细胞只有一种光敏感色素，因此不能传递颜色信息。

Roof plate，顶板：对建立背 - 腹极性有重要作用的神经管背部。相邻的表皮诱导骨形态发生蛋白 -4 在顶板细胞中表达，它转而在神经管附近的细胞中诱导一系列转化生长因子 - β 蛋白。

Rosette，玫瑰花团：风车样的结构，例如，在哺乳动物大脑的室管膜区 - 室管膜下区，被具有纤毛的室管膜细胞环围的小簇神经干细胞所组成的结构。

Rostral-caudal，前 - 后：拉丁语，“喙 - 尾”。前 - 后位置的轴；在涉及脊椎动物的胚胎或脑时常被使用。

Rotational cleavage，旋转卵裂：哺乳动物和线虫胚胎的卵裂图式。在哺乳动物，第一次卵裂是正常的经线分裂，而在第二次卵裂，其中一个卵裂球进行经线分裂，另一个进行中纬分裂。在秀丽隐杆线虫，每次不对称分裂形成一个产生分化子代的生成细胞和一个干细胞。干细胞谱系总是进行经线分裂以产生一个前端的生成细胞和一个维持干细胞谱系的后端细胞。

Roundabout protein（Robo），Roundabout 蛋白：是 slit 蛋白的受体，参与调控连合轴突的中线穿越。

Royalactin，成蜂王蛋白：诱导蜜蜂幼体变成蜂王的蛋白质。这个蛋白质由工蜂喂给幼体，在幼体的脂肪体中结合表皮生长因子受体，刺激产生保幼激素，而保幼激素能升高产生卵所需的卵黄蛋白的水平。

R-spondin1（Rspo1），R-spondin1 蛋白：小的可溶性蛋白，能上调 Wnt 途径，对哺乳动物的卵巢形成有关键作用。

RTK pathway，受体酪氨酸激酶途径：受体酪氨酸激酶被配体二聚化后，导致受体的自磷酸化。一个衔接体蛋白识别受体酪氨酸激酶的磷酸化酪氨酸，并激活一个中间蛋白，鸟嘌呤核苷酸交换因子，这个因子使结合 GDP 的 Ras 蛋白磷酸化并将其激活。同时，GTP 酶激活蛋白促进 Ras 蛋白上磷酸键的水解，使 Ras 蛋白恢复到非活化状态。活化的 Ras 蛋白激活 Raf 蛋白激酶 C，而蛋白激酶 C 进而磷酸化一系列激酶。最终，一个被激活的激酶通过磷酸化某些转录因子（这些因子进入细胞核，改变被转录的基因的类型），或通过磷酸化某些翻译因子

（它们改变蛋白质合成的水平）在应答细胞的核内改变基因的表达。在很多情况下，这个途径被钙离子的释放所增强。

Sacral neural crest，骶神经嵴：位于躯干神经嵴后部的神经嵴细胞，与迷走神经嵴共同产生肠的副交感（肠）神经节，对肠的蠕动是必需的。

Sarcopterygian fish，肉鳍鱼类：肉鳍鱼，包括腔棘鱼和肺鱼。四足动物演化自肉鳍鱼类祖先。

Satellite cell，卫星细胞：肌肉的干细胞和祖细胞群体，它们沿成体肌纤维分布并能应答损伤或锻炼，这些细胞增殖后变为成肌细胞，而成肌细胞融合后形成新的肌纤维。

Scatter factor，分散因子。见 **Hepatocyte growth factor（肝细胞生长因子）**。

Schizocoely，裂体腔法：使最初由中胚层细胞组成的实心索空心化而形成体腔的胚胎发育过程。这是原口动物的特征。见 **Enterocoely（肠体腔法）**。

Schwann cell，施万细胞：周围神经系统的神经胶质细胞类型，这些细胞产生髓鞘，使电信号沿轴突快速传递。

Sclerotome，生骨节：每个体节腹内侧半部分的中胚层细胞团，将分化成椎骨、椎间盘（除髓核）和肋骨，以及脊髓膜和营养脊髓的血管。它们对神经嵴和运动神经元的图式化也至关重要。

Sebaceous gland，皮脂腺：毛囊相关的腺体，产生一种润滑毛发和皮肤的油性物质，即**皮脂**。

Secondary hypoblast，次级下胚层：在双层的鸟类胚盘层中处在上胚层的下部。这一层细胞源于胚盘层后缘富含卵黄的深层细胞，它们向前迁移，置换下胚层岛（初级下胚层）。下胚层细胞不形成鸟类胚胎本体，但形成部分外膜，尤其是卵黄囊，并提供特化上胚层细胞迁移的化学信号。也称为内胚层。

Secondary larva，次级幼体：基本形体构型与成体相同的幼体，如毛虫和蝌蚪。比较 **Primary larva（初级幼体）**。

Secondary neurulation，次级神经胚形成：神经管后部形成的过程，间充质细胞合并成一个实心索，这个索随后产生一些腔，它们合并后形成一个中空的管。

Secondary oocyte，次级卵母细胞：第一次减数分裂后的单倍体卵母细胞（这次分裂也产生第一极体）。

Secondary sex determination，次级性别决定：生殖腺分泌的激素引导的发育事件，这些激素在生殖腺以外影响表型。这包括雄性或雌性导管系统和外生殖器，在很多物种中还包括性别特异的体型、声带软骨、肌肉。

Secondary spermatocyte，次级精母细胞：来自初级精母细胞第一次减数分裂的一对单倍体细胞，它们随后完成第二次减数分裂以产生四个单倍体精子。

Segment polarity gene，体节极性基因：成对规则基因编码的蛋白质所激活的果蝇合子基因，它们的 mRNA 和蛋白质产物将胚胎分割成体节单位，建立胚胎的周期性。体节极性突变体的每个体节都具有缺陷（缺失、重复、极性逆转）。

Segmentation gene，分节基因：其产物将果蝇早期胚胎沿前 - 后轴方向分割成重复的体节原基的一些基因。包括裂隙基因、成对规则基因、体节极性基因。

Selective affinity，选择性亲和力：解释分散的细胞根据它们原来在胚胎中的位置重新聚集的原理。具体来说，外胚层的内表面与中胚层细胞有正亲和力，而与内胚层有负亲和力，但中胚层细胞与外胚层和内胚层细胞都有亲和力。

Self-renewal，自我更新：一个细胞通过分裂而产生它自身的复制品的能力。

Semaphorin，Semaphorin 蛋白：排斥迁移性神经嵴细胞和轴突生长锥的细胞外基质蛋白。

Seminiferous tubule，生精小管：在雄性哺乳动物的生殖腺中从睾丸索形成。它们含有支持细胞（抚育细胞）和精原细胞（精子干细胞）。

Senescence，老年化：代表老龄特征的生理性退化。

Septum，隔膜：分隔一个腔室的隔离物，例如，房间隔将发育中的心房分隔成左心房和右心房。复数是 septa。

Sertoli cell，支持细胞：睾丸生精小管中较大的分泌性支持细胞，在成体中通过滋养和维持发育中的精子细胞而参与精子发生。这些细胞在胎儿中分泌抗苗勒氏管激素，并为迁入的生殖细胞提供微环境。它们来自生殖嵴上皮的体细胞。

Sesamoid bone，籽骨：因机械应力而在关节处形成的小骨（如髌骨）。它们来自中胚层，由膜内成骨形成。

Sex-lethal（*Skl*），**性别致死基因：**在果蝇中参与性别决定的常染色体基因。它编码一个剪接因子，启动一系列 RNA 加工事件，最终产生雄性和雌性特异的转录因子，即双性蛋白。见 *Doublesex*（**双性基因**）。

Shh，见 **Sonic hedgehog 蛋白**。

Shield，胚盾。见 **Embryonic shield（胚盾）**。

Signal transduction cascade，信号转导级联反应：旁分泌因子与受体结合后在细胞内启动一系列酶促反应的应答途径，然后这些酶促反应通常以多种应答方式作为它们的终点，例如，转录因子的调节（致使细胞在应答旁分泌因子后表达不同的基因），和（或）细胞骨架的调节（致使细胞在应答旁分泌因子后改变其形状或能够迁移）。

Silencer，沉默子：DNA 调控元件，结合一些活跃抑制特定基因转录的转录因子。

Single stem cell asymmetry，单干细胞不对称性：干细胞分裂的一种方式，每次分裂产生两种细胞类型，即一个干细胞和一个发育定型的细胞。

Sinistral coiling，左旋：向左旋转。蜗牛的旋转圈开口于壳的左侧。见 **Dextral coiling（右旋）**。

Sinus venosus，静脉窦：发育中的心脏后部区域，将血液带至心脏的两个主要卵黄静脉在这个位置融合。它是通向心脏的心房区的流入道。

Sinusoidal endothelial cell，窦内皮细胞：内衬肝的大血管（血窦），对肝功能有关键作用的细胞。这些细胞在肝再生过程中也提供成肝干细胞分裂所需的旁分泌因子。一直被认为来自中胚层，现在已知它们至少在一定程度上来自特殊的内胚层细胞。

Sirtuin gene，脱乙酰化酶基因：编码组蛋白脱乙酰作用（染色质沉默）的酶，这些酶守卫基因组，阻止基因在错误的时间和位置表达，也可能帮助修复染色体断裂。它们可能是过早老龄化的重要防御手段。

Skeletogenic mesenchyme，成骨间充质：也称为初级间充质，源于海胆胚胎 60 细胞期的第一排小分裂球（大的小分裂球）。它们内移进入囊胚腔，并形成幼体的骨骼。

SKN-1，SKN-1 蛋白：秀丽隐杆线虫卵母细胞中控制 EMS 细胞命运的母体转录因子，EMS 细胞是 4 细胞期时标志发育中的胚胎腹部区域的细胞之一。

Slit protein，Slit 蛋白：具有斥化作用的细胞外基质蛋白；参与抑制神经嵴细胞的迁移和控制连合轴突的生长。

Slow block to polyspermy，多精入卵的慢阻断：见 **Cortical granule reaction**（皮质颗粒反应）。

Smad family，Smad 家族：转化生长因子 - β 超家族成员激活的转录因子，在 SMAD 途径中发挥作用。见 **SMAD pathway**（**SMAD 途径**）。

SMAD pathway，SMAD 途径：转化生长因子 - β 超家族成员激活的途径。转化生长因子 -β 配体结合 II 型转化生长因子 -β 受体，进而使这个受体结合 I 型转化生长因子 -β 受体。这两个受体紧密接触后，II 型受体使 I 型受体的丝氨酸和苏氨酸磷酸化，因此使其激活。被激活的 I 型受体使 Smad 蛋白磷酸化。Smad1 和 Smad5 被骨形态发生蛋白家族的转化生长因子 - β 激活，而结合激活蛋白、Nodal 蛋白和转化生长因子 - β 家族成员的受体使 Smad2 和 Smad3 磷酸化。这些被磷酸化的 Smad 结合 Smad4，形成进入细胞核的转录因子复合物。

Small micromere，小的小分裂球：海胆胚胎第 5 次卵裂时，小分裂球在植物极分裂所产生的一簇细胞。

Solenoid，螺线管：被组蛋白 H1 稳定的、紧密缠绕的核小体形成的结构，通过阻止转录因子和 RNA 聚合酶接触基因而抑制基因的转录。

Soma，胞体：希腊语，“身体”。可以指细胞体（尤其是神经元），或形成生物体躯体的细胞（不同于生殖细胞）。

Somatic cell nuclear transfer（SCNT），体细胞核移植：不太准确地被称为“克隆化”，这是将一个细胞核移植到激活的去核卵中的技术，引导具有相同于供体细胞的基因组的完整生物体的发育。

Somatic cell，体细胞：组成身体的细胞，也就是生物体中除了生殖细胞以外的所有细胞。比较 **Germ cell**（**生殖细胞**）。

Somatic（parietal）mesoderm，体壁中胚层：来自最接近背部外胚层的侧部中胚层，被胚内体腔与其他侧部中胚层（接近内胚层的腹部脏壁中胚层）分开。体壁中胚层与其上部的外胚层组成将要形成体壁的胚体壁。体壁中胚层也形成体腔的部分内衬。不能将它与体节（轴旁）中胚层混淆。

Somatopleure，胚体壁：由体壁侧板中胚层和其上部的外胚层组成。

Somite，体节：邻近脊索（中轴中胚层）的轴旁中胚层形成的中胚层分节块。每个体节含有几个主要的区室：生骨节形成中轴骨骼（椎骨和肋骨），生皮肌节进一步形成生皮节和生肌节。生皮节形成背部的真皮；生肌节形成背部、肋架和腹部的肌肉组织。另有一些肌祖细胞从生皮肌节的外缘脱离，迁移到肢以形成前肢和后肢的肌肉。

Somitic mesoderm，体节中胚层。见 **Paraxial mesoderm**（**轴旁中胚层**）。不能将它与**体壁中胚层**混淆。

Somitogenesis，体节发生：从头部开始向尾部延伸，轴旁中胚层分节形成体节的过程。这个过程包括：①周期性，②裂隙形成（分隔体节），③上皮化，④特化，⑤分化。

Somitomere，体节球：早期的前体节，轴旁中胚层细胞组织成的细胞螺纹状结构。

Sonic hedgehog（Shh），Sonic hedgehog 蛋白：主要的 hedgehog 家族旁分泌因子。Shh 在不同的胚胎组织中具有不同的功能。例如，它被脊索分泌，诱导神经管腹部区域形成底板。它也参与左右不对称的建立、原始肠管的分化、鸟类羽毛的正确形成、生骨节的分化、肢芽前 - 后轴的图式化。

Sox9，Sox9 蛋白：参与多个发育过程的常染色体基因，最主要是骨的形成。它能在哺乳动物的生殖嵴中诱导睾丸的形成，具有 XX 核型的人在多出一个 *SOX9* 拷贝时发育成雄性。

Specification，特化：细胞或组织命运定型的第一个时期，这时细胞或组织被置入相对于它们的发育途径是中性的环境中能够自主地（通过自身）分化。在特化期，细胞的命运定型仍可以被逆转。

Spemann's Organizer，Spemann 组织者。见 **Organizer**（**组织者**）。

Sperm head，精子头部：由细胞核、顶体和少量细胞质组成。

Sperm-activating peptide（SAP），精子活化肽：棘皮动物卵胶膜上的小趋化肽。它们从卵胶膜扩散到海水中并具有物种特异性，只吸引相同物种的精子。海胆（*Arbacia punctulata*）中的呼吸活化肽就是一个例子。

Spermatid，精子细胞：第二次减数分裂后的单倍体精子细胞。在哺乳动物，精子细胞仍被细胞质桥互相连在一起，这使基因产物能通过细胞质桥扩散。

Spermatogenesis，精子发生：精子的产生。

Spermatogonium，精原细胞：精子干细胞。一个精原细胞停止有丝分裂时，它变成一个初级精母细胞并在减数分裂前增加体积。

Spermatozoon，精子：雄性配子或成熟的精子细胞。

Spermiogenesis，精子形成：从圆形的单倍体精子细胞分化为成熟的精子。

Spina bifida，脊柱裂：脊柱没有完全围绕脊髓闭合的一种先天性缺陷，通常位于背下部。这些缺陷有不同程度的严重性，最严重的情况是神经褶也未闭合。

Spiral holoblastic cleavage，螺旋完全卵裂：多种动物类群的特征，包括环节动物蠕虫、一些扁形动物和多数软体动物。卵裂与动植物极轴成斜角，使子卵裂球呈现"螺旋"排列。这些细胞比辐射卵裂胚胎中的细胞有更多接触面，产生最稳定的热力学排列取向。

Splanchnic (visceral) mesoderm，脏壁中胚层：也称为脏壁侧板中胚层；来自最接近腹部内胚层的侧部中胚层，被胚内体腔与其他侧部中胚层（接近外胚层的背部体壁中胚层）分开。脏壁中胚层与其下部的内胚层组成脏壁层。脏壁中胚层将形成心脏、毛细血管、生殖腺、覆盖器官的脏腹膜和浆膜、肠系膜、血细胞。

Splanchnopleure，胚脏壁：由脏壁侧板中胚层和下部的内胚层组成。见 **Splanchnic mesoderm**（脏壁中胚层）。

Spliceosome，剪接体：小的核 RNA 和剪接因子组成的复合物，结合剪接位点和介导核 RNA 的剪接。

Splicing enhancer，剪接增强子：核 RNA 的顺式作用序列，促进剪接体在 RNA 切割位点的组装。

Splicing factor，剪接因子：结合剪接位点或其邻近区域的蛋白质。

Splicing isoform，剪接异构体：由相同的基因编码，被可变剪接产生的不同蛋白质。

Splicing silencer，剪接沉默子：核 RNA 的顺式作用序列，从 mRNA 序列排除外显子。

Src family kinase (SFK)，Src 家族激酶：使酪氨酸残基发生磷酸化的酶家族，参与众多的信号转导事件，包括生长锥对趋化物的应答。

Sry，Y 染色体性别决定区：是 Sex-determining region of the Y chromosome 的缩写。*Sry* 基因编码哺乳动物睾丸决定因子。这个基因在生殖嵴中很可能只有几个小时的活性，在此期间它合成 Sry 转录因子，其主要作用是激活睾丸形成所需的 *Sox9* 基因。

STAT，信号转导及转录激活蛋白：是 Signal transducer and activator of transcription 的缩写。它们属于一个家族的转录因子，是 Janus 激酶 - 信号转导及转录激活蛋白途径的一部分。对调节人类胎儿骨骼的生长有重要作用。

Stem cell，干细胞：来自胚胎、胎儿和成体的相对未分化细胞，它们在分裂时产生：①一个保持未分化特征并保留在干细胞微环境的细胞；②一个离开干细胞微环境并进入一种或多种分化途径的细胞。见 **Adult stem cell**（成体干细胞）；**Embryonic stem cell**（胚胎干细胞）。

Stem cell factor (SCF)，干细胞因子：对维持某些干细胞（包括造血、精子和色素干细胞）有重要作用的旁分泌因子。它结合 Kit 受体蛋白。

Stem cell mediated regeneration，干细胞介导的再生：干细胞使一个生物重新生长出某些失去的器官或组织（如毛发、血细胞）的过程。

Stem cell niche，干细胞微环境：提供细胞外基质和旁分泌因子的一个环境（调节性微环境），使驻留在其中的细胞维持相对未分化的状态。这个环境调节干细胞的增殖和分化。

Stereoblastula，实囊胚：没有囊胚腔的囊胚，如螺旋卵裂产生的囊胚。

Steroidogenic factor 1 (Sf1)，类固醇生成因子 -1：对建立哺乳动物双潜能生殖腺所需的一个转录因子。它在发育中的卵巢降低，但在发育中的精巢维持高水平，这使睾丸间质细胞和支持细胞雄性化。

Stochastic，随机的：有关一个随机过程，该过程提供一组可以进行统计分析，但却不一定能够预期的随机变量。

Stomodeum，口凹：胚胎口部区域的外胚层内陷，与闭合的肠管内胚层接触后形成口板。

Stratum germinativum，生发层。见 **Basal layer**（基底层）。

Stromal-derived factor 1 (SDF1)，间质衍生因子 -1：一种化学吸引物。例如，外胚层基板分泌间质衍生因子 -1，以此将颅神经嵴细胞吸引至基板。

Stylopod，肢柱：脊椎动物肢的近端骨，邻近体壁；或是肱骨（前肢），或是股骨（后肢）。

Subgerminal cavity，胚（盘）下腔：鸟类卵的胚盘层和卵黄之间的空间，它在胚盘层细胞从蛋清（"蛋白"）中吸收水，以及在自身和卵黄之间分泌液体时形成。

Subgranular zone (SGZ)，颗粒层下区：大脑中含有神经干细胞的海马区域，使这个区域能够进行成体的神经发生。

Subventricular zone，室管膜下区：脊椎动物大脑的一个区域，在祖细胞从室管膜区迁移出去后形成。

Sulcus limitans；界沟：将发育中的脊髓和髓质分隔成背部（接收感觉输入）和腹部（起始运动功能）这两个部分的纵沟。

Superficial cleavage，表面卵裂：具有中央卵黄卵的合子的细胞质分裂，由于大量的卵黄聚集在中央，卵裂仅发生在围绕细胞周边的一圈细胞质，如昆虫卵的分裂。

Surfactant，表面活性物质：特殊的蛋白质和磷脂分泌物，如在妊娠的很后期，肺的 II 型肺泡细胞分泌的鞘磷脂和卵磷脂。表面活性物质使肺泡细胞相互接触但不黏合在一起。

Symbiont，共生生物：共生关系中的小生物体，另一个生物体很大，且作为宿主，而小生物体可以生活在其表面或身体内部。

Symbiosis，共生：希腊语，“共同生活”，指不同物种的生物体之间的密切联结关系。

Synapse，突触：神经元接触靶细胞（可以是另外的神经元或其他类型的细胞）的接合点，神经递质分子（乙酰胆碱、γ- 氨基丁酸、5- 羟色胺）形式的信息穿过突触间隙在两种细胞之间交换。

Synapsis，联会：第一次减数分裂过程中，同源染色体的高度特异性平行排列（配对）。

Synaptic cleft，突触间隙：将信息传递神经元的轴突与树突或其靶细胞的胞体分隔的小缝隙。

Synaptonemal complex，联会复合体：同源染色体联会过程中形成的蛋白质丝带，将它们维持在一起。它像一个梯状结构，具有一个中央成分和两个联结同源染色体的侧条。见 **Synapsis**（联会）。

Syncytial blastoderm，合胞体胚盘层：描述果蝇胚胎卵裂过程中细胞核分裂时，没有形成细胞膜以将核分隔成独立的细胞。

Syncytial specification，合胞体性特化：细胞核与转录因子在共同的细胞质中相互作用，最终导致细胞的特化，如果蝇的早期胚胎。

Syncytiotrophoblast，合体滋养层：来自哺乳动物滋养层的细胞群体，它们进行有丝分裂但没有胞质分裂，因此产生多核的细胞。合体滋养层组织被认为通过消化子宫组织而促进胚胎进入子宫壁。

Syncytium，合胞体：许多核驻留在共同的细胞质，这是核分裂但没有胞质分裂或细胞融合导致的结果。

Syndetome，生腱节：希腊语，*syn*，（“连接”）。来自最背部的生骨节细胞，表达 *scleraxis* 基因并形成腱。

Syndrome，综合征：希腊语，“共同发生”。一些同时出现的畸形或病理。遗传性综合征或是因为一个染色体事件（例如，21 三体综合征，或唐氏综合征）使一些基因缺失或增加，或是因为一个基因产生很多效应。

Systems theory，体系理论：在发育中，将生物体视为通过其元程序的相互作用而结合在一起的一种研究方法。尽管每个体系的着重点各不相同，理论体系方法可用 6 个原则来表征：①背景依赖特性；②层次特异性特征和突现；③异质性因果关系；④整合；⑤模块化和稳健性；⑥发育稳态（变化中的稳定性）。

T-box（Tbx），T 框：某些转录因子的特异性 DNA 结合域，包括 *T*（*Brachyury*）、*Tbx4* 和 *Tbx5* 基因编码的蛋白质。Tbx4 和 Tbx5 分别参与后肢和前肢的特化。

Target selection，目标选择：轴突连接特化的第二阶段，轴突到达正确的区域时，它们识别并结合一组细胞，并与这些细胞形成稳定的连接。

Telencephalon，端脑：前脑的前部分区；它将最终形成大脑半球。

Telogen，休止期：毛囊再生周期的静止期。

Telolecithal，端黄卵：描述鸟类和鱼类的卵，这些卵仅在动物极处具有一个无卵黄的小区域。

Telomerase，端粒酶：能够将端粒延伸至它们的全部长度并维持端粒完整性的酶复合物。

Telomere，端粒：染色体末端的 DNA 重复序列，为染色体提供一个保护帽。

Telson，尾节：一个尾状结构；这是某些节肢动物的最后部体节。见于昆虫的幼体，如果蝇。

Temporal colinearity，时间共线性：控制同源异形基因激活时序的机制，首先发生在前部，然后依次在后部发生；这样，相对于它们从 3′ 到 5′ 的基因组排列顺序，建立同源异形基因表达的空间共线性。

Teratocarcinoma，畸胎癌：源于恶性原生殖细胞并具有未分化干细胞群体（胚胎癌性细胞）的肿瘤，它具有类似于内细胞团的生化和发育特性。胚胎癌性细胞能分化成各种各样的组织，包括肠和呼吸道上皮、肌细胞、神经、软骨和骨骼。

Teratogen，致畸因子：希腊语，“怪物创造者”。在发育中产生干扰，导致畸形发生和形成先天缺陷的外源因素。畸形学研究出生缺陷和环境因素如何干扰正常发育。

Terminal end bulb，终末端球：哺乳动物乳腺导管中广泛分支的末端。在青春期受雌激素的影响，乳腺导管通过这些芽的延伸而生长。

Testis cord，睾丸索：在发育中的睾丸，髓（中心）区形成的环圈，由发育中的支持细胞和进入其中的生殖细胞形成。它们将变成生精小管和精子发生的位置。

Testis-determining factor，睾丸决定因子：哺乳动物 Y 染色体上 *Sry* 基因编码的一个蛋白质，它将生殖腺组织成睾丸而不是卵巢。

Testosterone，睾酮：产生雄性特征的类固醇激素。在哺乳动物，它由胎儿的睾丸分泌，使胎儿雄性化，刺激阴茎、雄性导管系统、阴囊，以及雄性解剖结构其他部分的形成；它也抑制乳腺原基的发育。

Tetrad，四联体。见 **Bivalent**（二价体）。

Tetrapod，四足动物：拉丁语，“四个足”。包括脊椎动物两栖类、爬行动物、鸟类、哺乳动物。它们演化自肉鳍鱼（肉鳍鱼类）祖先。

TGF-β family，转化生长因子 - β 家族：转化生长因子 - β 超家族中一个家族的生长因子。

TGF-β superfamily，转化生长因子 - β 超家族：这是 30 多个结构相关的成员所组成的一组旁分泌因子。转化生长因子 - β 超家族的基因编码的蛋白质被加工后，羧基端区域含有成熟肽。这些肽二聚化以形成同型二聚体（与它们自己）或异型二聚体（与其他转化生长因子 -β），

然后从细胞中分泌出来。转化生长因子 -β 超家族包括转化生长因子 - β 家族、激活蛋白家族、骨形态发生蛋白、Vg1 家族及其他蛋白质，如胶质细胞源性神经营养因子（对肾和肠神经元的分化是必需的）和抗苗勒氏管激素（参与哺乳动物的性别决定）。

Thecal cell，卵泡膜细胞：哺乳动物卵巢的类固醇激素分泌细胞，它们与卵泡细胞共同形成包裹生殖细胞的滤泡。这些细胞从卵巢的间充质细胞分化而来。

Thermotaxis，趋温性：温度梯度引导的迁移，或向高梯度，或向低梯度。

Threshold model，阈值模型：生物事件在一个形态发生素或激素达到特定浓度时被触发出来的发育模型。

Thyroid hormone receptor（TR），甲状腺激素受体：结合甲状腺激素三碘甲腺原氨酸和甲状腺素的核受体。甲状腺激素受体与激素结合后变成基因表达的转录激活物。有多种不同类型的甲状腺激素受体，包括甲状腺激素受体 -α 和甲状腺激素受体 -β。

Thyroxine（T_4），甲状腺素：含有 4 个碘分子的甲状腺激素；它被去除一个碘分子后变成更有活性的三碘甲腺原氨酸形式。甲状腺素能提高细胞的基础代谢率。它在两栖类启动变态。

Tip cell，顶端细胞：能够应答血管内皮细胞生长因子，在新血管发生过程中开始出芽以形成新血管的内皮细胞。见 **Ureteric bud tip cell（输尿管芽顶端细胞）**。

Tissue engineering，组织工程：再生医学的一种方法，利用类似于细胞外基质的材料或来自供体的脱细胞化细胞外基质制备一个支架，种植干细胞，用于替代一个器官或一个器官的一部分。

Torpedo，Torpedo 蛋白：Gurken 蛋白的受体。这个受体表达在果蝇卵室的末端滤泡细胞，它与卵产生的 Gurken 蛋白相结合，指令这些滤泡细胞分化成后部滤泡细胞，并合成一个激活蛋白激酶 A 的分子；这个过程在一定程度上建立卵和未来胚胎的前 - 后轴。

Totipotent，全能性：拉丁语，“能做所有的事情”。描述一些干细胞形成一个生物体所有结构的潜能，例如，最早期的哺乳动物卵裂球（直到 8 细胞期）能形成滋养层细胞和胚胎前体细胞。比较 **Pluripotent（多能性）**。

trans-activating domain，反式激活域：转录因子的结构域，结合基因的启动子或增强子，激活或抑制该基因转录，这个结构域通常使转录因子与结合 RNA 聚合酶的蛋白质或与修饰组蛋白的酶相互作用。

***trans*-regulatory element，反式调控元件：**一些可溶性分子，其基因位于基因组的其他位置，这些分子结合顺式调控控元件。它们通常是转录因子或微 RNA。

Transcription，转录：DNA 被拷贝成 RNA 的过程。

Transcription elongation complex（TEC），转录延伸复合物：多个转录因子组成的复合物，打破 RNA 聚合酶 II 与中介体之间的连接，使已经启动的转录继续进行。

Transcription elongation suppressor，转录延伸阻遏物：一个抑制性转录因子，阻止转录延伸复合物与 RNA 聚合酶 II 的结合，暂停转录。

Transcription factor，转录因子：结合 DNA 的蛋白质，对特定启动子、增强子或沉默子具有精确的序列识别。

Transcription factor domain，转录因子结构域：三个主要的结构域包括 DNA 结合域、反式激活域、蛋白质相互作用域。

Transcription initiation site，转录起始位点：基因的 DNA 序列，编码一个修饰的核苷酸“帽”，在 RNA 被转录后将其添加到 RNA 的 5′ 端。它也被称为帽序列。

Transcription termination sequence，转录终止序列：基因的 DNA 序列，转录在这个位置终止。在终止之前，转录持续到基因 3′ 非翻译区的 AATAAA 位点下游约 1000 个核苷酸。

Transcription-associated factor（TAF），转录联结因子：稳定基因启动子上的 RNA 聚合酶，使其起始转录的蛋白质。

Transcriptome，转录物组：在一个生物体或一种特定类型的组织或细胞中，基因表达的全部信使 RNA（mRNA）。

Transdifferentiation，转分化：一种细胞类型转变成另一种细胞类型。

Transforming growth factor，转化生长因子。见 **TGF-β superfamily（转化生长因子 - β 超家族）**。

Transgene，转基因：外源 DNA 或基因通过实验操作被导入细胞的基因组。

Transit amplifying cell，过渡性扩增细胞。见 **Progenitor cell（祖细胞）**。

Transition zone，过渡带：在脊椎动物的神经管发育过程中，进行初级神经胚形成的区域和进行次级神经胚形成的区域之间的分区。这个带的大小在不同物种之间存在差异。见 **Primary neurulation** and **Secondary neurulation（初级神经胚形成和次级神经胚形成）**。

Translation，翻译：信使 RNA 的密码子被翻译成多肽链的氨基酸序列的过程。

Translation initiation site，翻译起始位点：ATG 密码子（在 mRNA 中变成 AUG），它指示基因第一个外显子（蛋白质编码区域）的起始。

Translation termination codon，翻译终止密码子：基因的序列，TAA、TAG 或 TGA，被作为 mRNA 的密码子转录，遇到这种密码子时，核糖体分离，蛋白质被释放下来。

Trefoil stage，三叶期：某些螺旋卵裂胚胎的一个时期，第一次卵裂时挤出一个很大的极叶，在它被 CD 卵裂球吸收回去之前，这看似第三个细胞正在形成。

Tri-iodothyronine（T_3），三碘甲腺原氨酸：活性更高的甲状腺激素，从甲状腺素去除一个碘分子后产生。见 **Thyroxine（T_4），甲状腺素**。

Triploblast，三胚层动物。见 **Bilaterian**（两侧对称动物）。

Trisomy 21，21 三体综合征：人的 21 号染色体出现三个副本的状态（一个非整倍性的例子）。它导致唐氏综合征。

Trithorax，三胸蛋白：一个蛋白家族，在细胞进行有丝分裂时受到招募以维持 DNA 区域转录状态的记忆；它们使活跃的基因维持活性状态。

Trophectoderm cell，滋养外胚层细胞：在哺乳动物的胚胎中，包围内细胞团和囊胚腔的胚泡外层细胞。它们发育成胎盘的胚胎部分。

Trophoblast，滋养层：将要结合子宫的早期哺乳动物胚胎（桑椹胚和胚泡）的外部细胞。滋养层细胞形成绒毛膜（胎盘的胚胎部分）。也称为滋养外胚层。

Truncus arteriosus，动脉干：心脏流出道的前体，它与动脉圆锥共同形成主动脉和肺动脉的基部。

Trunk neural crest，躯干神经嵴：这个区域的神经嵴细胞如果沿腹部途径迁移，它们将形成含有感觉神经元的背根神经节、交感神经节、肾上腺髓质、主动脉周围的神经簇、施万细胞；如果沿背侧途径迁移，它们将产生背部和腹部的黑素细胞。

Tubulin，微管蛋白：聚合形成微管的二聚体蛋白。微管是细胞骨架的主要组分；它们存在于中心粒和基体；它们也形成有丝分裂纺锤体，以及纤毛和鞭毛的轴丝。

Tudor，Tudor 蛋白：与 Piwi、Vasa、Nanos 共同表达在生殖细胞，以抑制基因表达的蛋白质。它通过定位后部形态发生素 Nanos 蛋白，在果蝇胚胎中参与建立前 - 后极性。

Tumor angiogenesis factor，肿瘤血管生长因子：微肿瘤分泌的因子；这些因子（包括血管内皮细胞生长因子、成纤维细胞生长因子 -2、胎盘样生长因子，以及其他因子）刺激内皮细胞的有丝分裂，引导细胞向肿瘤分化成血管。

Tumor suppressor gene，抑癌基因：调节性基因，其产物防止细胞发生癌变。这些基因产物能抑制细胞分裂或增强细胞之间的黏着；它们也能诱导快速分裂的细胞进行凋亡。失活抑癌基因的突变或不适当的甲基化会引起癌症。

Tunica albuginea，白膜：在哺乳动物中，稍白的厚细胞外基质囊，包裹睾丸。

"Turing-type" model，"图灵式"模型。见 **Reaction-diffusion model**（反应 - 规范模型）。

Type II deiodinase，II 型脱碘酶：细胞内的酶，从甲状腺素的外环去除一个碘原子，将它转变成活性更高的三碘甲腺原氨酸。

Type III deiodinase，III 型脱碘酶：细胞内的酶，从三碘甲腺原氨酸的内环去除一个碘原子，将它转变成无活性、最终被代谢成酪氨酸的二碘甲腺原氨酸。

Type IV collagen，IV 型胶原蛋白：形成细网络结构的一类胶原蛋白；见于基底膜，是上皮下部的细胞外基质。

Type A spermatogonium，A 型精原细胞：哺乳动物的精子干细胞，这些细胞进行有丝分裂，维持 A 型精原细胞群体，同时也产生 B 型精原细胞。

Type B cell，B 型细胞：大脑的室管膜区 - 室管膜下区的玫瑰花团中的一类神经干细胞；它们在嗅球和纹状体中促进特定类型神经元的产生。

Type B spermatogonium，B 型精原细胞：哺乳动物的精母细胞前体，是这个谱系中进行有丝分裂的最后一批细胞。它们分裂一次，以产生初级精母细胞。

Umbilical cord，脐带：源于尿囊的连接索，在胎盘哺乳动物中将胚胎血液循环带至母体的子宫血管。

Umbilical vein，脐静脉：见 **Omphalomesenteric vein** and **Vitelline vein**（脐肠系膜静脉和卵黄静脉）。

Undifferentiated zone，未分化带。见 **Progress zone**（渐进带）。

Unipotent stem cell，单能干细胞：仅产生一种细胞类型的干细胞，例如，哺乳动物精巢的精原细胞只形成精子。

Unsegmented mesoderm，未分节中胚层：分节形成体节之前的轴旁中胚层带。

3′Untranslated region（3′UTR），3′ 非翻译区：真核生物基因和 RNA 的翻译终止密码子下游的一个区域，尽管被转录，但不被翻译成蛋白质。它含有多腺苷酸尾插入转录物所需的区域，多腺苷酸尾能使转录物出核。

5′Untranslated region（5′UTR），5′ 非翻译区：也称为前导序列或前导 RNA；它是真核生物基因或 RNA 的一个区域。在基因中，它是转录起始和翻译起始位点之间的碱基对序列；在 RNA 中，它是 RNA 的 5′ 端。这个区域不被翻译成蛋白质，但能决定翻译起始的速度。

Ureteric bud tip cell，输尿管芽顶端细胞：在后肾形成过程中，输尿管芽分支顶端形成的干细胞群体。

Ureteric bud，输尿管芽：在羊膜动物，成对的上皮性分支受后肾间充质的诱导，从每个成对的肾管分支出来。输尿管芽形成收集管、肾盂和输送尿到膀胱的输尿管。

Urodele，有尾类：包括蝾螈的两栖类种群。比较 **Anuran**（无尾类）。

Urogenital sinus，尿生殖窦：在哺乳动物，被尿生殖膈从直肠分隔开来的泄殖腔区域。膀胱形成于尿生殖窦的前部分，而尿道发育自后部区域。尿生殖窦在雌性中形成斯基恩氏腺；而在雄性中形成前列腺。

Uterine cycle，子宫周期：月经周期的组分，其功能是为发育中的胚泡提供适宜的环境。

Vagal neural crest，迷走神经嵴：来自颈部区域的神经嵴细胞，与颅部和躯干神经嵴边界重叠。它们与骶神经嵴共同产生肠的副交感（肠）神经节，对肠的蠕动是必需的。

Vas（ductus）deferens，输精管：源于沃尔夫管，精子通过这个管从附睾进入尿道。

Vasa，Vasa 蛋白：与 Tudor、Piwi、Nanos 共同表达在生殖细胞，以抑制基因表达的蛋白质。它通过定位后部形态

发生素 Nanos 蛋白，在果蝇胚胎中参与建立前 - 后极性。

Vascular endothelial growth factor（VEGF），血管内皮细胞生长因子：参与血管发生的一个蛋白家族，包括多种血管内皮细胞生长因子，以及胎盘生长因子。每种血管内皮细胞生长因子似乎都能使成血管细胞分化，并使它们增殖以形成内皮管。VEGF 对新血管生成也有关键作用。

Vasculogenesis，血管发生：从侧板中胚层新创一个血管网络。见 **Extraembryonic vasculogenesis**（**胚外血管发生**）。

Vegetal hemisphere，植物半球：卵细胞的下部分，卵黄更为密集。卵黄是卵裂的障碍，例如，在两栖类胚胎，这使充满卵黄的细胞分裂缓慢并在胚胎发生过程中进行较少的运动。

Vegetal plate，植物板：海胆囊胚植物极的细胞增厚区域。

Vegetal pole，植物极：卵或胚胎含有卵黄的一端，与动物极相对。

Vegetal rotation，植物极旋转：在蛙的原肠胚形成过程中，内部细胞的重排将未来咽内胚层细胞置于囊胚腔附近，紧位于内卷中胚层的上部。

VEGF，见 **Vascular endothelial growth factor**（**血管内皮细胞生长因子**）。

VegT pathway，VegT 途径：在两栖类胚胎中参与背 - 腹极性的建立和组织者细胞的特化。这个途径在胚胎植物半球的细胞中激活 Nodal 蛋白相关的旁分泌因子的表达，这转而在它们上部的中胚层细胞中激活 Smad2 转录因子，以此激活赋予中胚层细胞“组织者”特性的基因。

Vellus，毫毛：胎儿和新生儿的短的丝样毛，这些毛保留在人体通常被认为是无毛的许多部位，如额和眼睑。在身体的其他部位，毫毛被长和粗的“终”毛取代。

Ventral furrow，腹沟：果蝇原肠胚形成起始时未来中胚层的内陷，大约 1000 个细胞组成胚胎的腹中线。

Ventral pathway，腹部途径：躯干神经嵴细胞的迁移途径，它们穿过生骨节的前端向腹部运动，参与形成交感和副交感神经节、肾上腺髓质细胞和背根神经节。

Ventricular（ependymal）cell，室管膜细胞：内衬脑室并分泌脑脊液的神经上皮。

Ventricular radial glia（vRG），室管膜区放射状胶质细胞：驻留在室管膜区的祖细胞。它们产生神经元、外部放射状胶质细胞和中间祖细胞。见 **Ventricular zone**（**室管膜区**）。

Ventricular zone（VZ），室管膜区：发育中的脊髓和脑的内层。这个区域由初始神经管的增殖性神经上皮形成，含有神经祖细胞，作为神经元和胶质细胞的来源。它将形成室管膜。

Ventricular-subventricular zone（V-SVZ），室管膜 - 室管膜下区：含有神经干细胞，能在成体进行神经发生的大脑区域。

Vertical transmission，垂直传递：在共生中，这指共生生物从一代传递到下一代，通常是通过卵。

Vg1，Vg1 蛋白：转化生长因子 -β 超家族中的一个蛋白质。它在两栖类胚胎中对中胚层的特化有重要作用。见 **TGF-β superfamily**（**转化生长因子 - β 超家族**）。

Visceral endoderm，脏壁内胚层：哺乳动物原始内胚层细胞与上胚层接触的区域。见 **Primitive endoderm**（**原始内胚层**）。

Visceral mesoderm，脏壁中胚层。见 **Splanchnic mesoderm**（**脏壁中胚层**）。

Viscerocranium，脏颅：源于咽弓的颌和其他骨骼成分。

Vital dye，活体染料：用于标记细胞但不破坏它们的染料。在胚胎中，活体染料被用于追踪发育过程中的细胞迁移和绘制胚胎特定区域的命运图谱。

Vitelline envelope，卵黄被：在无脊椎动物，这是细胞外基质围绕卵细胞膜外部而形成的纤维状垫，通常参与精卵识别，对精子的物种特异结合是必不可少的。卵黄被含有多种不同的糖蛋白。它被辅以细胞膜延伸的膜糖蛋白以及使卵黄被黏附于细胞膜的蛋白质“支柱”。

Vitelline vein，卵黄静脉：连接心内膜的静脉，它们将营养物从卵黄囊输送到发育中的脊椎动物心脏的静脉窦。在鸟类，这些静脉由卵黄囊血岛形成，将营养物运输至胚胎，并将气体传入和传出呼吸交换的位置。在哺乳动物，它们被称为脐肠系膜静脉或脐静脉。

Vitellogenesis，卵黄发生：卵黄蛋白的形成，这些蛋白质被储存在初级卵母细胞。

Viviparity，胎生。幼体在母体中孕育并出生自母体，而不是孵化自卵。比较 **Oviparity**（**卵生**）。

Vulval precursor cell（VPC），阴门前体细胞：秀丽隐杆线虫幼体时期的 6 个细胞，将被诱导信号诱导形成阴门。

White matter，白质：脑和脊髓的轴突（相对于神经元）区域。这是因为髓鞘使轴突呈现白色的外观而命名。比较 **Gray matter**（**灰质**）。

Wholist organicism，整体有机论：一个哲学概念，认为整体的特性不能仅从其组成部分的特性预测出来，组分的特性取决于它们与整体的关系。这个概念对发育生物学的发展有很大的影响。

Wnt pathway，Wnt 途径：Wnt 蛋白与它们的细胞膜受体 Frizzled 蛋白结合后所启动的信号转导级联。这种结合能起始不同的信号途径（“经典”和“非经典”），在细胞核内激活 Wnt 应答基因。

Wnt4，Wnt4 蛋白：Wnt 家族的一个蛋白质；Wnt4 在哺乳动物中调节初级性别决定、肾的发育、减数分裂的时间。它表达在双能的生殖腺，但在变成精巢的 XY 生殖腺中不表达；Wnt4 的表达维持在变成卵巢的 XX 生殖腺。见 **Wnt**（**Wnt 蛋白**）。

Wnt7a，Wnt7a 蛋白：在四足动物的肢中对特化背 - 腹极性尤为重要的一个 Wnt 蛋白；它表达在肢芽外胚层的背部，而不在腹部。如果背部的表达缺失，肢的背侧和腹侧将形成腹部的结构，如爪的两侧都形成腹足垫。见 **Wnt（Wnt 蛋白）**。

Wnt，Wnt 蛋白：富含半胱氨酸的多糖蛋白旁分泌因子家族。它们的名称来自果蝇的体节极性基因（*wingless*）和脊椎动物的同源物（*integrated*）的混成词。Wnt 蛋白对建立昆虫和脊椎动物肢的极性、促进干细胞增殖，以及泌尿生殖系统发育的多个环节有至关重要的作用。

Wolffian（nephric）duct，沃尔夫（肾）管：在无脊椎动物，发育中的排泄系统的导管沿中肾中胚层向下生长，诱导它形成肾小管。在羊膜动物，这个管最终在雌性中退化，但在雄性中变成附睾和输精管。

Wound epidermis，创伤表皮：在蝾螈肢的再生过程中，表皮细胞在截肢后迅速迁移到残肢截面以覆盖创伤表面；然后这个表皮增厚，变成顶端外胚层帽。

X chromosome inactivation，X 染色体失活：在哺乳动物，每个雌性（XX）细胞中的一条 X 染色体的染色质被不可逆地转变成高度浓缩的异染色质，即巴氏小体，以此防止 X 染色体上的基因过量转录。见 **Dosage compensation（剂量补偿）**。

Yellow Crescent，黄新月：被囊动物的合子细胞质从植物极延伸至赤道的区域，在受精后通过含有黄色脂质内含体的细胞质的迁移而形成；这个区域将变成中胚层。它含有特化肌细胞的转录因子的 mRNA。

Yolk cell，卵黄细胞：在鱼类胚胎，动物极的无卵黄细胞质在多卵黄的细胞质上分裂成独立的细胞后产生的多卵黄细胞。最初，所有的细胞与下面的卵黄细胞保持连接。

Yolk plug，卵黄栓：在原肠胚形成过程的两栖类胚胎中，被胚孔环围并暴露在植物极表面的一些大的内胚层细胞。

Yolk sac，卵黄囊：最早形成的胚外膜，源于在卵黄上生长以包裹卵黄的脏壁层。卵黄囊在发育中的鸟类和爬行动物介导营养。它被卵黄管连接到中肠，因此卵黄囊壁与肠壁相连。

Yolk syncytial layer（YSL），卵黄合胞体层：在斑马鱼卵裂期的胚胎中，第 9 或第 10 个细胞周期时形成的一个细胞群体。这时胚盘层植物极边缘的细胞与下部的卵黄细胞融合，在卵黄细胞的细胞质中产生一环细胞核，紧位于胚盘层的下部。它们对引导原肠胚形成的一些细胞运动有重要作用。

Zebrabow，斑马荧光彩虹法：用于激发不同组合和不同强度的各种荧光蛋白在细胞中表达的转基因斑马鱼，这个方法将细胞用类似于彩虹的各种颜色予以标记，在一个组织、器官或整个胚胎中能被用于识别单个细胞。

Zeugopod，肢杆：脊椎动物肢中部的骨骼；桡骨和尺骨（前肢）或胫骨和腓骨（后肢）。

Zona pellucida，透明带：哺乳动物卵周围的糖蛋白外被（细胞外基质），它由生长中的卵母细胞合成和分泌。

Zona protein 1，2，and 3（ZP1，ZP2，ZP3），透明带蛋白 -1，2 和 3：哺乳动物卵透明带中的三个主要糖蛋白；人的透明带也含有透明带蛋白 -4。它们以相对但不是绝对的物种特异性方式参与精子的结合。

Zone of polarizing activity（ZPA），极性活性区：肢芽渐进带最后部的一个小的中胚层组织块。它通过旁分泌因子 Sonic hedgehog 蛋白的作用在发育的肢中特化前 - 后轴。

Zygote，合子：受精卵，合子的细胞核中含有二倍体的染色体组，来自单倍体雄原核和雌原核的融合。

Zygotene，偶线期：希腊语，“绑在一起的线”。在第一次减数分裂中，这是前期 I 的第二个阶段，这时同源染色体并排配对；接下来是细线期。

（Q-4543.31）

《发育生物学》是一本可读性强，介绍平衡、全面的书，涵盖了这一迷人领域的所有最重要的方面。这还是一本很好的教科书，向初学者、高级学生，甚至其他领域的专家介绍发育和再生生物学的美丽和复杂性。

——Michael Levin，塔夫斯大学

这是最佳的发育生物学教科书——一个真正的经典，并且包含了所有新的快速发展领域的概念。让学生们看到整个发育生物学领域正向分子科学快速转变。

——Jessica LaMae Whited，哈佛大学

这本书是发育生物学的金标准。书中展示的许多显微照片和该书的综合性使它成为这个领域里认真学习的学生不可或缺的资源。

——Jeff Hardin，威斯康星大学麦迪逊分校

内容特色：

与之前的版本相比，第11版有以下几点区别：

- 新版本增加了对发育神经生物学的介绍，以及包括发育生物学对认知科学的影响的内容。
- 这一版突出了对干细胞的讨论。干细胞不仅有助于理解器官发育，也展示出器官再生这一诱人的潜力。
- 体内标记使一些谱系示踪的研究发生了令人难以置信的变化。本书还介绍了计算机增强的可视化使科学家能利用一些令人惊叹的新技术手段来观察胚胎发育。
- 这一版介绍了动物发育，甚至是哺乳动物，受环境因素显著影响的观点。
- 本书还希望讲授科学的方式可以有所发展，因此在章节编排上重新做了调整，以及在每一章中给出更多的“翻转”课堂、实例研究和其他学习手段等附加内容。



科学出版社 生物分社
联系电话：010-64012501
E-mail：lifescience@mail.sciencep.com
网址：http://www.lifescience.com.cn

销售分类建议：发育生物学


科学出版社互联网入口


赛拉艾芙
生命科学订阅号


本书更多信息
请扫码

生命因你而精彩！

www.sciencep.com


ISBN 978-7-03-064496-1


9 787030 644961 >

定 价：320.00 元